Microbiología Española

VOL. III

N.º 3-4

MCML

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
28 MAR 1

SUMARIO

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Biografía de don Juan Marcilla Arrazola 171
Condiciones óptimas de proliferación de la Torulopsis Utilis —var. Magna de Thaysen—, sobre prehidrolizados de carozos de maíz (mazorcas desgranadas), por **Juan Marcilla Arrazola (†), Enrique Feduchy Mariño, Luis Hidalgo Fernández-Cano y José Garrido Márquez** ... 181
Formas micósicas en la conjuntiva tracomatosa, por **A. Socías** 187
Opacímetro de registro fotográfico continuo, por **C. Xalabarder** 199
Estudios sobre inclusiones intracelulares, producidas por virus, en las plantas, por **Miguel Rubio Huertos**..... 207

INFORMACION

V Congreso Internacional de Microbiologia 233
El VII Congreso Internacional de Botánica, por **M. Jordán de Urríes** 241
En memoria de don Juan Marcilla 245
Elecciones para cargos directivos 245
Nombramiento 245
Nueva denominación 245
Actas de la Sociedad 246

BIBLIOGRAFIA

Hauduroy (P.) et Chain (E.), Florey (H.), Jensen (K. A.), Penso (G.), Trefouel (J.) et Wells.—1950. Bacilles tuberculeux et paratuberculeux 247
Keyser (J. W.).—1950. Chemistry and Therapeutics of Synthetic Drugs 247
Indice de artículos de revistas 248

SE SUPLICA EL CAMBIO
ON PRIE L'ECHANGE
AUSTAUSCH ERBETEN
EXCHANGE DESIRED

TODA LA CORRESPONDENCIA DEBE DIRIGIRSE A
MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA
SERRANO, 113 - MADRID - (ESPAÑA)

Número suelto: 22 pesetas. Suscripción anual (4 números): 80 pesetas.

Microbiología Española

publicada por la Sociedad de Microbiólogos Españoles y el Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología del C. S. I. C.

Vol. III

MCML

Redacción: SERRANO, 113

MADRID

INDICE DEL VOLUMEN III

SUMARIO DEL NUM. 1

Páginas

Código Internacional de Nomenciatura Bacteriana 3

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Un nuevo medio de cultvo: agar de grama, por **Juan Santa María Ledochowski** 31

Un método de Laboratorio para el ensayo de anticriptogámicos contra el mildiú de la patata, por **Miguel Benlloch** 39

Determinación biológica de los efectos desnaturalizantes de ciertos enzimas sobre los sueros antitóxicos, por **F. Moreno de Vega** 43

INFORMACION

Actas de la Sociedad 57

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de Revistas 59

SUMARIO DEL NUM. 2

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Investigación de nuevos agentes quimioterápicos, por **Selman A. Waksman** 83

Bacterias y mohos procedentes de cultivos de folículos tracomatosos, por **A. Socías** 99

Ensayo microbiológico de la vitamina B_{12} con el L. leichmannii.—Influencia del pH y temperatura en su estabilidad, por **R. Préstamo** 117

Posibilidad de fabricar levaduras prensadas sobre prehidrolizados de residuos agrícolas, por **Juan Marcilla Arrazola** y **Luis Hidalgo Fernández-Cano** 125

INFORMACION

Estancia del profesor Waksman 131

Discurso del profesor Socías 133

Discurso del profesor Waksman 140

Sir Howard Walter Florey 141

El profesor Penso, en la Sociedad 142

Nueva colección de bacterias de interés industrial 142

Actas de la Sociedad 144

BIBLIOGRAFIA

Indice de artículos de Revistas 145

SUMARIO DEL NUM. 3-4

Páginas

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

Biografía de don Juan Marcilla Arrazola 171
Condiciones óptimas de proliferación de la Torulopsis Utilis —var. Magna de Thaysen—, sobre prehidrolizados de carozos de maíz (mazorcas desgranadas), por **Juan Marcilla Arrazola** (†), **Enrique Feduchy Mariño, Luis Hidalgo Fernández-Cano y José Garrido Márquez** ... 181
Formas micósicas en la conjuntiva tracomatosa, por **A. Socías** 187
Opacímetro de registro fotográfico continuo, por **C. Xalabarder** 199
Estudios sobre inclusiones intracelulares, producidas por virus, en las plantas, por **Miguel Rubio Huertos**..... 207

INFORMACION

V Congreso Internacional de Microbiologia 233
El VII Congreso Internacional de Botánica, por **M. Jordán de Urríes** 241
En memoria de don Juan Marcilla 245
Elecciones para cargos directivos 245
Nombramiento 245
Nueva denominación 245
Actas de la Sociedad 246

BIBLIOGRAFIA

Hauduroy (P.) et **Chain (E.), Florey (H.), Jensen (K. A.), Penso (G.), Trefouel (J.)** et **Wells.**—1950. Bacilles tuberculeux et paratuberculeux 247
Keyser (J. W.).—1950. Chemistry and Therapeutics of Synthetic Drugs 247
Indice de artículos de Revistas 248

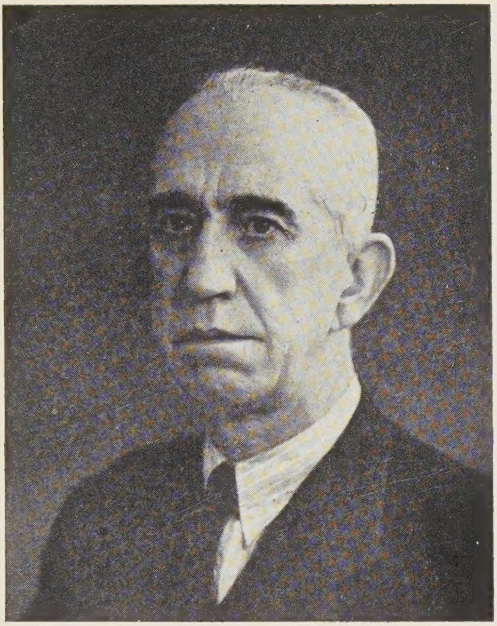
Microbiología Española

VOL. III

N.º 3-4

MCMI

GRAFICAS TEJARIO, S. A. Plaza del Biombo, 4. Teléfono 22 12 88. MADRID



Prof. Ing. JUAN MARCILLA ARRAZOLA

(27-XII-1886 — 16-VIII-1950)

La pérdida de don Juan Marcilla ha significado, para los que le conocieron, la desaparición, no ya sólo del Maestro y del Investigador, sino también del hombre bueno, noble y sencillo que jamás negó colaboración y consejo cuando le fueron solicitados. La Redacción de MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA, *que de él recibió alientos y orientaciones en la tarea continua, no puede dejar pasar este número, en que de manera tan especial se le recuerda, sin hacer constar en las páginas que fueron creciendo bajo su vigilancia permanente, el más profundo sentimiento por la muerte de quien fué su primer y querido Director.*

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/international-microbiology_1950_3_3-4

BIOGRAFIA DE DON JUAN MARCILLA ARRAZOLA

Don Juan Marcilla Arrazola nació en Madrid el día 27 de diciembre de 1886. Nieto por línea materna de don Lorenzo Arrazola, ministro de Justicia de S. M. la Reina Isabel II, tuvo gran parecido con él, no sólo físico, comparable en cuadro familiar, sino también parecidos de orden moral, por el talento, fidelidad y honradez que le caracterizaron, los que puestos a prueba en difíciles momentos del pasado siglo, fueron reconocidos y apreciados, otorgándole el ingreso en la Orden del Toisón de Oro y concesión de grandes cruces.

Unico hijo varón de los cinco hermanos, en él se concentraron las ilusiones familiares, pues su clara inteligencia se manifestó desde los primeros años. De espíritu delicado, fué entusiasta de la música, cursando rápidamente la carrera de piano.

Las temporadas de vida en el campo de la tierra solar despertaron su afición por la carrera de Ingeniero Agrónomo. Comenzó sus estudios con éxito y entusiasmo, destacando brillantemente en la Escuela desde el primer año, que terminó con el número 1, el que no perdió durante toda la carrera, que cursó con Matrícula de Honor y Título de Honor.

La vida no le fué fácil; huérfano de padre desde los catorce años, fué necesario, para continuar su carrera, que algún ingreso compensase los gastos. No fué causa de preocupación por su parte; se ayudó con lecciones y pronto creó prestigiosa academia preparatoria, la que alcanzó próspero desarrollo.

El año 1910 terminó su carrera, siendo destinado a la Estación de Viticultura y Enología de Villafranca del Panadés, dirigida por don Cristóbal Mestre, otra figura gloriosa del Cuerpo de Ingenieros Agrónomos; pronto se identificaron y su mutua amistad y admiración duró toda la vida.

En este Centro comenzó los primeros trabajos de Microbiología por su propia iniciativa, y su especialización en Enología y Viticultura, trabajando intensamente en sus laboratorios, en donde se estaban aplicando, por primera vez en España, los métodos electroquímicos al análisis de los vinos.

En Viticultura realizó estudios y trabajos de especialización, pasando con este fin una temporada en la Estación de Viticultura de Montpellier.

En 1911 fué destinado, de acuerdo con su especialización, a la Estación Ampelográfica Central, dirigida por el eminente ampelógrafo don Nicolás García

de los Salmones, con quien colaboró en la intensa labor de estudio, ensayo e implantación de portainjertos americanos para la repoblación del viñedo filoxerado.

En esta época publicó, con el señor García de los Salmones, la obra de Química, Viticultura y Enología que tanto bien ha hecho, principalmente en la Enología española.

Su incansable actividad encontró tiempo para ejecutar también trabajos de aplicación práctica, como los de organización, construcción y dirección de bodegas cooperativas, adaptando en su instalación las mejoras alcanzadas por la técnica moderna. A esta época y siguientes pertenecen las de Cintruénigo, Peñafiel, La Seca, Alcázar de San Juan, Santa María de los Llanos y proyectos de otras aún no realizadas.

En el curso 1923-1924 fué nombrado, por concurso de méritos, catedrático de Viticultura y Enología en la Escuela Especial de Ingenieros Agrónomos. Pronto se destacó su presencia en este Centro. Sus clases despertaron el entusiasmo de sus alumnos, de los que muchos habían de elegir en el ejercicio de su carrera para su actuación en los primeros pasos profesionales aquellos asuntos relacionados con las especialidades vividas con el Profesor Marcilla, ya que se sentían no sólo firmes en su conocimiento, sino con seguridad para actuar en la práctica. Este fué el carácter de su enseñanza: hacer vivir su asignatura acompañando al alumno en su trabajo al mismo tiempo que le dirigía y enseñaba.

Por su entusiasmo y profunda convicción de la importancia de la Microbiología agrícola en la carrera de ingeniero agrónomo se creó esta cátedra en la Escuela, que desde el primer momento, hasta su muerte, desempeñó con intensidad creciente. Abiertos a todas horas sus laboratorios para los alumnos, velaron muchos de ellos hasta avanzadas horas para terminar el trabajo práctico, verdadero tema de investigación. Varios de estos trabajos fueron publicados algunos en esta misma Revista.

Numerosos han sido también los alumnos que, después de aprobada la asignatura de Microbiología, continuaron los trabajos de investigación emprendidos, y muchos los que, después de terminar la carrera, los continuaron, encontrando siempre facilidades para ello. No solamente éstos recibieron facilidad para especializarse. Era característica de don Juan Marcilla su generosidad para admitir en sus laboratorios a todo aquel que sinceramente quería trabajar, no escatimando medios ni (lo que era más precioso) su tiempo, cuando a él se dirigían para consultarle.

Este verdadero apostolado alcanzaba también con el mismo entusiasmo al humilde viticultor, despertando verdadera veneración entre la inmensa población de pequeños y grandes cosecheros de todas las regiones de España.

Fué el alma de los «cursillos» prácticos de Enología y, últimamente consiguió, con éxito grande, despertar el interés y hacer asequible en el terreno

de la práctica la aplicación de la Microbiología, en «cursillos», dados por primera vez en España, de Microbiología enológica. Tema que presentó recientemente en su ponencia sobre enseñanza enológica, al Congreso Vitícola y Enológico de Atenas.

Numerosas fueron también sus publicaciones en esta época; obras, revistas y folletos, tales como: «Vinificación en países cálidos», «Vinagres de vino», «Limpieza de bodegas», «Defectos, alteraciones y enfermedades de los vinos», etcétera.

Para sus clases preparó los Apuntes de Viticultura y Enología, y los de Microbiología; apuntes sin límites, que cada año ampliaba y mejoraba, base de una gran obra que era su ilusión terminar, sobre Microbiología española. También escribió ponencias y comunicaciones para los Congresos Internacionales a los que asistió, colaborando eficazmente y con prestigio para su Patria, en Roma, Lausanne, Amberes, Bruselas, Dinamarca, etc., referentes a la Viña y el Vino, Plantas tropicales, Reuniones de Expertos para la unificación de métodos de análisis de vinos, Microbiología, Química, etc.

El año 1933 la Fundación Nacional para Investigaciones Científicas y Ensayos de Reforma, con el fin de establecer un Centro de Investigación, abrió un concurso de temas de estudio, siendo elegido como el de mayor interés el presentado por don Juan Marcilla, referente a sus trabajos ya iniciados sobre levaduras que forman velo durante la «crianza» de vinos de elevado grado alcohólico. Se creó el Centro de Investigaciones Vinicolas y fué nombrado su Director.

Con la publicación aún en la imprenta de la primera serie de trabajos comenzaron los trágicos días de la época roja de Madrid. Como cristiano caballero sufrió duras pruebas y padeció la prisión. Fué entonces y durante las horas de forzosa quietud cuando su actividad se empleó en escribir la obra de Viticultura y Enología, refundición y ampliación de la anteriormente publicada con don Nicolás García de los Salmones, con el título de «Química, Viticultura y Enología».

Editada al terminar la guerra, fué premiada por el Office International du Vin.

En esta época de paz, gigantesca fué la obra que don Juan Marcilla emprendió y que, llegando a su cumbre, había de contribuir a su muerte. Nombrado Delegado en Madrid de la Dirección General de Agricultura, residente entonces, como el Gobierno, en Burgos, rápido y con clara visión resolvió difíciles asuntos.

También fué nombrado Director de la Escuela Especial de Ingenieros Agrónomos. Toda la extensión de ésta, en aquellos momentos, se reducía a un despacho del Ministerio de Educación Nacional. Con entusiasmo y fe, no solamente levantó de las ruinas su edificio, destruído por la guerra, sino que una nueva y

moderna organización de la enseñanza comenzó a regir, resucitando con vigor los laboratorios de especialización y consiguiendo la más completa instalación para la práctica y estudio de las industrias agrícolas, incrementando las de otras especialidades de la carrera.

Reconocido su valer por los que se proponían el engrandecimiento de España, y lleno de aquel verdadero fervor de trabajar por su Patria recuperada, siguió recibiendo los cargos que sobre él pesaron: Miembro del Consejo de Educación Nacional, Presidente de su Sección IV, Asesor técnico de organismos oficiales. No por ello dejó de trabajar en sus investigaciones, dándolas nuevamente impulso. Reorganizó el Centro de Investigaciones Vinícolas, realizando sus trabajos en los laboratorios hospitalariamente cedidos por el Jardín Botánico de Madrid. Allí comenzó sus investigaciones sobre la fermentación cítrica por el *Aspergillus niger*, de extraordinaria importancia para nuestro país, trabajo que, ya bastante avanzado cuando su ingreso en la Real Academia de Ciencias, expuso en su discurso de recepción.

Al surgir la magna creación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, el Centro de Investigaciones Vinícolas (que también las había hecho extensivas a la fermentación cítrica, butílica e isopropilbutílica), pasó del Instituto de España al Consejo, constituyendo la Sección de Fermentaciones del Instituto «Cajal».

Aquí pudo don Juan Marcilla ampliar su campo de estudios cada día con más profundidad y entusiasmo, dando mayor impulso a las investigaciones sobre la fermentación cítrica, ya comenzadas, fijación del nitrógeno por la levadura en su fase aerobia, enriquecimiento de la misma en grasa por su permanencia en atmósfera de alcohol, y dió comienzo a los estudios que tanto interés habían de despertar sobre «multiplicación de levaduras para pienso», comenzando por el estudio analítico de su riqueza en proteínas, vitaminas, glicógeno, grasas, ácido nicotínico, que fueron objeto de publicaciones y comunicaciones. Realizando después el estudio de las materias primas más convenientes para dicha multiplicación de levaduras, trabajo publicado con el título: «Contribución al estudio de materias primas españolas para la síntesis microbiana de proteínas».

Pertenecía también al Instituto de Investigaciones Agronómicas, en donde dirigía la Estación de Química Agrícola, y posteriormente al Patronato «Juan de la Cierva». Relacionó todos estos centros con altura de miras, completando las investigaciones puras con ensayos de carácter industrial. Entre sus trabajos publicados en el «Boletín de Investigaciones Agronómicas» están: «La fijación del nitrógeno atmosférico de los suelos», «Contribución al estudio de una especie de Saccharomycodes resistente a la acción tóxica del sulfuroso», «Las bacterias de las nudosidades de las leguminosas», «Una mezcla de indicadores de pH especialmente indicada para la industria enológica», «Inoculación de semillas leguminosas con bacterias radicícolas», «Las materias primas españolas para la

fabricación de levaduras-pienso», «Los procesos de acondicionamiento (desligníficación) de las pajas de cereales, ¿serán reductibles en España?». Trabajos que publicó haciendo constar el nombre de sus colaboradores, lo que siempre tuvo presente con generosidad y delicadeza.

Su labor profunda y eficaz fué reconocida y admirada. Condecorado con las grandes cruces del Mérito Agrícola y de Alfonco X el Sabio, le fueron impuestas en actos de sentido homenaje por los respectivos Ministros de Agricultura y Educación Nacional.

Ingresó en la Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales como académico de número, y en la de Farmacia fué elegido, sorprendiéndole la muerte en vísperas de su ingreso.

Grande fué su valer y grandes la admiración y cariño de todos los que le conocimos, pero su muerte hace más intensos estos sentimientos; sus obras, realizadas con característica sencillez, no carecían, por eso, de esfuerzos y sacrificios, los que, unidos a su visión privilegiada y al inmenso caudal de sus conocimientos, las hicieron llegar a la altura que ocupan; por eso, al tratar de continuarlas, se aprecia más la grandeza de la obra por él realizada.

Su autoridad y prestigio, reconocido en todo el mundo, se manifiestan ahora con su pérdida en toda su magnitud. Demostraciones de profundo sentimiento y sincera admiración y cariño llegan de numerosos países. Portugal, en su Estación Agronómica de Sacavèm, expuso una «Orden del Día» comunicando su muerte y comentando su vida, que siempre recordaremos. En Francia, como sentido homenaje a su memoria, ha sido designado otro español para ocupar su puesto en el Office International du Vin. En Grecia, durante el Congreso Internacional de Viticultura y Enología, celebrado en Atenas, al recibir la triste noticia de su fallecimiento, se comunicó en solemne sesión, dando origen a expresiones de sentimiento y exaltación de su recuerdo, acordándose, como homenaje, reservar su puesto para un español.

Muy largo espacio sería necesario para seguir exponiendo, aun en forma sucinta, las manifestaciones de sincero sentimiento que siguieron llegando de Suiza, Italia, Inglaterra, países de Norteamérica y América del Sur; de Australia, en donde reciben la triste noticia al tratar de estrechar las relaciones científicas su Centro de Microbiología de Adelaida.

Refiriéndonos a nuestro país, su pérdida ha sido la del Maestro, maestro paternal que a todos atendía. A toda España ha llegado el sentimiento, sentimiento profundo del que pierde un amigo y consejero leal. Son innumerables los alumnos que hoy, ya en el ejercicio de su profesión, recibían su consejo y enseñanza; numerosos los propietarios e industriales, principalmente vitivinícolas, que recibían su valioso asesoramiento, facilitado con completo desinterés, alcanzando su atención al más humilde y sencillo.

Pero donde don Juan Marcilla vivió con más intensa satisfación su vida de es-

tudio y experimentación fué en los laboratorios de microbiología del Instituto de su dirección. Para él era un descanso, en las horas libres de otras obligaciones que le distraían de su trabajo de investigación, poder dedicarse plenamente a él y sin límite de tiempo.

Con la misma satisfacción venía a estas reuniones de nuestra Sociedad de Microbiólogos, de la que fué Presidente y que con tanta fe contribuyó a crear y organizar.

Tomó parte activa en las conferencias y desarrollo de la Revista, estimulando con su ejemplo y comunicando su entusiasmo. Sus características de elevada categoría científica y sencillez en su trato, se reflejaron en las sesiones de la Sociedad, donde se desarrollaron numerosos temas de alto interés científico, en un ambiente gratamente familiar.

Memorable será la última sesión celebrada bajo su presidencia; en ella comunicó la invitación del Gobierno del Brasil con motivo del Congreso de Microbiología, que había de celebrarse en Río de Janeiro. Mandaba a la Sociedad de Microbiológos tres pasajes de avión, uno de ellos, personal para don Juan Marcilla. Este viaje no había de realizarlo nunca, pues la víspera de su marcha cayó mortalmente enfermo. Cayó como el soldado en la batalla: contestando a una consulta científica, un derrame cerebral le hirió de muerte. Su espíritu era gigante, pero su naturaleza, sufrida y martirizada, no pudo resistir ya. Sólo tres días más duró su vida. El Señor le concedió lucidez para despedirse de los suyos y encomendar su alma, muriendo como había sido su vida, de cristiano ejemplar, el día 16 de agosto, siguiente al de la Asunción de Nuestra Señora, rodeado de sus once hijos.

Descanse en paz y vele por nosotros.

E. F.

PUBLICACIONES DEL PROFESOR MARCILLA ARRAZOLA

MARCILLA (J).—1922 Vinificación en países cálidos. Calpe. Madrid.
——— Limpieza y conservación de bodegas. **Cartilla del Agricultor.** Calpe. Madrid.
——— y **GARCIA DE LOS SALMONES (N.).**—1922. Química, Viticultura y Enología. Imprenta RAM. Madrid.
——— 1929. ¿La vid forrajera? **Agricultura.** I: 61 y 111. Madrid.
——— 1930. Le fermentación supercuatro y la fermentación continua. **Agricultura.** II: 9 y 73. Madrid.
——— 1930. Tuberías fijas para vinos, mostos y vendimias estrujadas. **Agricultura.** II: 608. Madrid.
——— 1933. Algunos ensayos de la aplicación de la centrifugación a las industrias enológicas. **Agricultura.** V: 10-100. Madrid.
——— 1933. El gas sulfuroso y las nuevas orientaciones de la vinificación. **Agricultura.** V: 531. Madrid.
——— 1933. Nuevas orientaciones para el estudio de los vinos. **Agricultura.** V: 8 y VI: 13. Madrid.
——— 1933. Vinagres vínicos. **Agricultura.** V: 530, 599, 671 y 747. Madrid.
——— 1935. IV Congreso Internacional de la Viña y el Vino. Informe español. **Informes presentados por las Comisiones Nacionales del Office International du Vin.** 203-213.
——— 1936. Enturbiamiento de origen microbiano en los vinos vírgenes. **Agricultura.** IX: 80. Madrid.
——— **ALAS (G.) y FEDUCHY (E.).**—1936. Contribución al estudio de las levaduras que forman velo sobre ciertos vinos de elevado grado alcohólico. **Anales del Centro de Investigaciones Vinícolas.** I. Instituto Microbiología. Madrid.
——— 1940. La «flor» de los vinos de Andalucía occidental y de otras comarcas españolas. **Investigación y Progreso.** III: 65-70. Madrid.
——— 1940. Nota preliminar sobre la producción de ácido cítrico por Aspergillus Niger. A partir de glúcidos, en medios naturales y sintéticos. **Trabajos del Inst. Cajal de Investigaciones Biológicas.** XXXII: 270-275. Madrid.
——— 1940. Problemas técnicos de importancia económica en la nueva organización de España. **Conferencia en la Universidad de Barcelona sobre Industrias Vitivinícolas en España.** Barcelona.
——— 1942. Algo nuevo para viticultores y viveristas. **Agricultura.** XIII: 358. Madrid.
——— 1942. Impresiones acerca de la situación y perspectivas inmediatas de nuestros mercados vitivinícolas. **Surco.** VII: 2-3. Madrid.
——— 1942. Levaduras-alimento para el hombre y levaduras-pienso. **Surco.** III: 5-9. Madrid.
——— 1942. La replantación de vides del país. **Agricultura.** XIII: 4. Madrid.
——— 1942. Tratado práctico de Viticultura y Enología españolas. I. (Viticultura) Primera edición. S. A. E. T. A. Madrid.
——— 1943. Algo más sobre repoblación de vides del país en la Mancha. **Agricultura.** XIV: 483. Madrid.

——— 1943. Las hormonas vegetales y sus aplicaciones. **Surco.** XI: 6-8. Madrid.
——— 1943. Posibilidades españolas para la síntesis biológica de las Proteínas. **Consejo Superior de Investigaciones Científicas.** Madrid.
——— **ALAS, (J.) y XANDRI (J.).**—1943. Contribucion al estudio de la fermentación cítrica por Aspergillus Niger. Primera comunicación en **Trabajos del Inst. Cajal de Investigaciones Biológicas.** I. Madrid.
——— y **FEDUCHY (E.).**—1943. Contribución al estudio de una levadura perteneciente al género Saccharomycodes, capaz de fermentar mostos de uva fuertemente sulfitados (mostos azufrados) sin previa desulfitación. 40. **Boletín Inst. Nal. Invest. Agronómicas.** Número 9 (separata número 29) Madrid.
——— y **FEDUCHY (E.).**—1943. Una mezcla de indicadores de pH, especialmente adecuada para la industria enológica. **Boletín Inst. Nal. Invest. Agronómicas.** VIII: 37-55. (Separata número 24.) Madrid.
——— 1944. La fijación de nitrógeno atmosférico en los suelos. **Euclides.** IV. número 35: 23-27. Madrid.
——— **AGUIRRE (A.), y XANDRI (J. M.).**—1944. Inoculación de las semillas de leguminosas con bacterias radicícolas. **Boletín del Inst. Nal. de Invest. Agronómicas.** X: 1-55. (Separata número 37). Madrid.
——— 1945. De la bodega a la mesa. El arte de beber vino y su trascendencia técnica y económica. **Surco. XXXV:** 9-11. Madrid.
——— 1945. Fabricación de levaduras con destino a la alimentación en la post-guerra. **Agricultura.** XVI: 500-569. Madrid.
——— 1945. La microbiología, ciencia de hoy y de mañana no interesa sólo a los médicos y a los veterinarios. **Surco.** XLIII: 14-15. Madrid.
——— **AGUIRRE (A.) y XANDRI (J. M.).**—1945. Inoculación de la semillas de leguminosas con bacterias radicícolas. **Boletín del Inst. Nal. de Invst. Agronómicas.** XII: 229-283. (Separata número 59.) Madrid.
——— **FEDUCHY (E.) y VIANA MARQUES (J.).**—1945. Contribución al estudio de levaduras salvajes y cultivadas de las microfloras española y portuguesa. **Trabajos del Inst. Cajal de Investigaciones Biológicas.** II: 161. Madrid.
——— **FEDUCHY (E.).**—1945. Las materias primas españolas para la fabricación de «levadura-pienso». **Boletín del Inst. Nal. de Inst. Agronómicas.** XII: 153-226. Madrid.
——— 1946. Algunas impresiones de un viaje de estudios. **Surco.** LII: 13 14. Madrid.
——— 1947. El IV Congreso Internacional de Microbiología se reúne en Copenhague. **Surco.** LXVI. 5-7. Madrid.
——— y **AZNAR (P.).**—1947. Variaciones de la riqueza en ácido nicotínico de diversas levaduras, con las de los medios de cultivo y multiplicación en aerobiosis o en anaerobiosis. **Microbiología Española.** I: 241-252. Madrid.
——— **BAUDIN (P.) y CREMADES (J.).**—1947. Contribución al estudio de la determinación, en las tierras, del ácido fosfórico asimilable por vía biológica. Trabajo de la Cátedra de Microbiología Agrícola e Industrial de la Escuela Especial de Ingenieros Agroónimos. **Microbiología Española.** I: 267-290. Madrid.
——— **FEDUCHY (E.) y REUS (A.).**—1947. La fabricación de levaduras pienso a partir de los rizomas tuberosos de gamones («asphodelus») en España.

Boletín del Inst. Nal. de Invest. Agronómicas. XVI: 1-91 (separata 82). Madrid.

——— **XANDRI (J.).**—1947. Nuevas contribuciones al estudio de la Fermentación cítrica por Aspergillus Niger en medios sintéticos. Segunda comunicación. **Microbiología Española.** I: 161-181. Madrid.

——— 1949. Defectos, alteraciones y enfermedades de los vinos. 146. III ed. **Servicio de Capacitación y Propaganda. Ministerio de Agricultura.** Madrid.

——— 1949. Los fundamentos científicos de las industrias de fabricación de levaduras prensadas y levaduras alimenticias. **Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales.** Madrid.

——— **AGUADO (M.)** y **CUADRADO (J.).**—1949. Estudio sobre la levadura Torulopsis Utilis. Trabajo de la Cátedra de Microbiología Agrícola e Industrial de la Escuela Especial de Ingenieros Agrónomos. **Microbiología Española.** II: 165-198. Madrid.

——— **AGUIRRE (J.)** y **XANDRI (J.).**—1949. Inoculación de leguminosas con bacterias radicícolas. Experiencias sobre inoculación de garbanzos con preparados comerciales de Rhizobium ciceri. **Boletín del Inst. Nal. de Investigaciones Agronómicas.** XIX: 1-75 (separata, 102).

——— 1950. Tratado práctico de Viticultura y Enología Españolas. II. (Enología). Tercera edición. S. A. E. T. A. Madrid.

——— 1950. Anteproyecto de ponencia sobre industrialización agrícola: aprovechamientos de productos y residuos agrícolas en industrias de fermentación. Nuevas industrias para la preparación de alimentos y piensos complementarios. **Congreso Nal. de Ingeniería Agronómica.** Publicación, 21: 21-67. Madrid.

——— 1950. Nuevas industrias de fermentación a base de productos y residuos agrícolas. **Agricultura.** XXI: 96-104. Madrid.

——— 1950. Ponencia sobre Enseñanza Vitivínicola y Asistencia técnica. Formación profesional en Viticultura y en Enología. VI Congreso Internacional de la Viña y del Vino, de Atenas. **Office Internacional du Vin.** París.

——— **AGUIRRE (J.)** y **XANDRI (J.).**—1950. Inoculación de leguminosas con bacterias radicícolas. Experiencia sobre inoculación de alfalfa con preparados comerciales de Rhizobium melitoti. **Boletín del Inst. Nacional de Invst. Agronómicas.** (En prensa.) Madrid.

——— y **FEDUCHY (E.).**—1950. Contribución al Estudio de la Fermentación Acética en la Elaboración de Vinagres Vínicos con Acetobacterias Seleccionadas. **VIII Congreso Internacional de Industrias de Bruselas.**

——— **FEDUCHY (E.), HIDALGO (L.)** y **GARRIDO (J.).**—1950. Estudio de la utilización de los prehidrolizados de carozos de maíz (mazorcas desgranadas) en la fabricación de levaduras alimenticias. **Cuaderno I del Instituto de Microbiología General y Aplicada. Sección de Fermentaciones Industriales del Patronato «Juan de la Cierva».** (En prensa.) Madrid.

——— e **HIDALGO (L.).**—1950. Posibilidades de fabricar levaduras prensadas sobre prehidrolizados de residuos agrícolas. **Microbiología Española.** III: 125-130. Madrid.

——— **HIDALGO (L.)** y **GARRIDO (J.).**—1950. Contribución al estudio de las sustancias solubles contenidas en los extractos acuosos de los granos de cereales y que actúan como factores de crecimiento o como metabolitos esen-

ciales para las levaduras industriales. **Comunicación al VIII Congreso Internacional de Industrias Agrícolas de Bruselas.**

—— - **RUIZ DE ASIN (A.).**—1950. Los procesos de acondicionamiento (deslignificación) de las pajas de cereales, ¿serán redituables en España?. **Boletín del Inst. Nal. de Invst. Agronómicas.** XXII: 75-106. (Separata, 128.) Madrid.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA GENERAL Y APLICADA
SECCION DE FERMENTACIONES INDUSTRIALES DEL PATRONATO "JUAN DE LA CIERVA"
C. S. I. C.

CONDICIONES OPTIMAS DE PROLIFERACION DE LA TORULOPSIS UTILIS —VAR. MAGNA DE THAYSEN—, SOBRE PREHIDROLIZADOS DE CAROZOS DE MAIZ (MAZORCAS DESGRANADAS)

Juan Marcilla Arrazola (†), Enrique Feduchy Mariño, Luis Hidalgo Fernández-Cano y José Garrido Márquez.

Próximos a publicarse, en los Cuadernos de la Sección de Fermentaciones Industriales del Patronato «Juan de La Cierva», los estudios realizados sobre la utilización de los prehidrolizados de carozos de maíz, en la fabricación de levaduras alimenticias, presentamos esta Comunicación como adelanto de los mismos.

En España, el problema fundamental, en el orden económico, para el auge de las nuevas industrias de fermentación y en el campo de otras bioquímicas no fermentativas (fabricación de furfural, xilosa, glucosa técnica o pura, etc.), es el disponer de hidratos de carbono abundantes y baratos. Esta exigencia general es de más necesaria urgencia en la fabricación de levaduras para alimentación de animales como pienso concentrado, extrordinariamente rico en proteínas de alto coeficiente de digestibilidad y en vitaminas del grupo B, entre otras del complejo de microfactores de las levaduras.

Las materias primas para todas estas industrias pueden ser productos vegetales predominantemente azucarados, amiláceos, celulósicos, o más o menos ricos en pentosas y poliurónidos. Para algunas finalidades son también utilizables productos ricos en materias pécticas.

En nuestra Patria, las melazas de azucarería son relativamente caras por ser en su casi totalidad consumidas en fábricas de alcohol y levadura prensada de panadería, y las materias amiláceas, además de caras, insuficientes para las necesidades de la alimentación humana y de los animales.

Se ha recurrido a otros substratos también ricos en azúcares fermentescibles y polisacáridos hidrolizables (inulina). Con este fin se estudió la utilización de los jugos de higos chumbos (*Opuntia ficus indica*) y como ricos en inulina a los de pataca (*Helianthus tuberosum*) y a rizomas de los *Asphodelus albus* y *microcarpus*, plantas estas últimas espontáneas y extraordinariamente abundantes en eriales extensísimos de comarcas de la Península y del Protectorado de Marruecos.

Para compensar la imposibilidad del empleo de materias primas amiláceas, utilizadas en otros países, y desechadas las de los substratos de «azúcares de madera», por carestía de la materia prima, no demasiado abundante, además de la complejidad de las instalaciones necesarias para la sacarificación de los leños y depuración de hidrolizados, y no siendo tampoco suficientes las fábricas de papel por el proceso de «lejías al sulfito», se ha recurrido a la sacarificación de residuos vegetales (carozos de maíz, cascarilla de arroz, paja, etc.), a residuos industriales (bagazos de caña de azúcar, etc.) y a otras plantas (tales como la grama), espontáneas y perjudiciales para la agricultura, productos, la mayoría, de extraordinaria abundancia y poco coste.

Aunque bastantes investigadores han estudiado la composición de los zuros de maíz, incluso Duning y Lathrop realizaron la prehidrolisis y la sacarificación de su celulosa, creemos que el tema por nosotros abordado es absolutamente nuevo, ya que los citados autores norteamericanos enfocaron la cuestión con el exclusivo objeto de la producción de xilosa y glucosa, y no mencionaron la posibilidad de dedicar las pentosas a nuestra finalidad, juntamente con otras sustancias ternarias, asimilables por algunas levaduras, que se obtienen en la prehidrolisis, extremo este último comprobado y valorado en su justo término por la Sección de Fermentaciones Industriales, y que será objeto de una próxima Comunicación.

Por cada cien kilos de materia prima disponemos de 33 a 34 kilogramos de pentosanas, aprovechables al realizar la prehidrolisis como elementos carbonados, plásticos y energéticos de las levaduras.

Para abreviar llamamos prehidrolisis a las logradas a temperaturas relativamente bajas (80°-110°) con soluciones ácidas bastante diluídas (1-4 %). En estas condiciones la sacarificación de la celulosa es casi nula y, por el contrario, es completa la hidrolisis de las pentosas y de los poliurónidos, constitutivos de la mayor parte de las sustancias que, en conjunto y de modo muy impreciso, reciben el nombre de hemicelulosas.

Del nitrógeno total contenido en los carozos de maíz (0,48 %) una parte importante pasa a los prehidrolizados, dependiente de la intensidad de la prehidrolisis; pero de ella sólo 0,010 gramos son titulables como nitrógeno formol, que se supone (en primera aproximación) asimilable por las levaduras, cantidades insuficientes, según se ha demostrado en el curso de las experiencias.

Es una cuestión importantísima la concerniente a la presencia de prehidrolizados de sustancias inhibidoras o retardatrices del crecimiento de las levaduras, una de ellas el furfural; pero con prehidrolisis suaves su concentración en los «mostos» no es inhibidora y sólo retrasa, en las primeras horas, el ritmo de proliferación y crecimiento de las levaduras alimenticias que se han ensayado. Otro grupo de inhibidoras parece que debe ser adscrito a sustancias oxidables (quizá compuestos fenólicos), que floculan por aireación de los caldos, dando

origen a grumos negruzcos, que se acumulan en las espumas y tienden a adherirse a las paredes de las cubas de multiplicación. Cuando en mostos obtenidos por enérgicas prehidrolisis se producen estas floculaciones en gran cantidad, la proliferación de las levaduras se detiene y las células sembradas quedan en parte englobadas en los grumos, cuya acción perjudicial pudiera ser a la vez de orden químico y mecánico, este último por recubrimiento de la membrana celular.

En definitiva, ninguno de los inhibidores existentes en los prehidrolizados de carozos es suficientemente enérgico para que su acción nociva se acuse de otro modo que por una disminución, no demasiado pronunciada, de la velocidad de multiplicación celular, cuando se procede a prehidrolizar con diluciones acuosas de SO_4H_2 al 3 % (peso/volumen) y a temperaturas de 100° C, condiciones suficientes para lograr una sacarificación completa de las pentosanas, y a diluir estos «mostos fuertes» hasta una concentración, en materias reductoras expresadas en glucosa (1), no superior a 20 gramos por litro.

Seguramente este método será el que se siga en la industria, ya que parece difícil, y en todo caso costosa, la eliminación de las materias nocivas por otro método. Continuamos, no obstante, nuestras investigaciones según dos rutas: una puramente científica de caracterización de los inhibidores, y otra ensayando su eliminación global por adsorción sobre bentonitas, alúmina, carbones activados o decolorantes, etc.

Respecto a deficiencias carenciales de los prehidolizados llegamos a precisar que la proliferación y el incremento de la materia seca de la levadura sembrada son óptimos con la adición de extractos acuosos de cereales preparados de modo análogo al «corn-steep». Las adiciones de agua de levadura y las de sulfito sódico (recomendadas las últimas por algunos investigadores norteamericanos para la utilización de los «azúcares de madera» en la misma fabricación que nos ocupa) nos dieron cosechas netamente inferiores.

Es probable que en la industria convenga mezclar una pequeña porción de grano molido a los carozos triturados, porque así aprovechamos al almidón (sacarificable), además de los microfactores de activación.

De los trabajos realizados y publicados por la Sección de Fermentaciones sobre la utilización de la cebada, centeno y avena, como sustitutivos del maíz en la preparación del «corn-steep», se deduce que para la Torulopsis utilis, entre otras, puede ser sustituído el clásico activador por el extracto acuoso de cebada, en primer lugar, sin diferencias sensibles en la proliferación y crecimiento celular, ni de los rendimientos del azúcar en materia seca de las cosechas.

El trabajo que nos ocupa, cuyo protocolo detallado ya hemos dicho que figu-

(1) Las materias reductoras se expresan en glucosa, aunque es sabido que en los carozos de maíz se encuentran principalmente bajo la forma de xilosa y ácidos urónicos.

rará en el Cuaderno número 1, actualmente en prensa, de la Sección de Fermentaciones Industriales, comprende un extenso estudio de todos los extremos apuntados, así como de las condiciones óptimas de proliferación de la Torulopsis utilis (var. magna de Thaysen), limitándonos en esta Comunicación a exponer el proceso «standard» que actualmente se sigue como consecuencia de todos ellos.

1.—**Prehidrolizados.**

Los prehidrolizados se obtienen por difusión a 100° C en cuatro elementos, con una hora de contacto entre sólido (molido groseramente) y solución de ácido sulfúrico al 3 % (peso/volumen).

Los «mostos fuertes» con que normalmente operamos responden al siguiente análisis medio:

Materias reductoras	5 %
Número de formol	0,7

Con difusiones más perfectas obtenemos prehidrolizados con un 8 % de materias reductoras, pudiendo llegar hasta los 14-15 gramos por 100, con lo que la industria podrá disminuir muy sensiblemente el volumen de los líquidos que han de ser manipulados, con economía en la cabida de las cubas de neutralización, en filtros, centrífugas, montajugos, etc. Para nuestras investigaciones utilizamos siempre prehidrolizados diluídos, por lo cual no era de gran interés el esforzarse en alcanzar las máximas concentraciones.

Los «mostos fuertes» se neutralizan parcialmente con CO_3Ca hasta pH 5-6, hirviendo a continuación durante tres minutos para lograr una mayor depuración. Al líquido filtrado se le añade 0,065 gramos de PO_4K_2H y 0,126 gramos de $SO_4(NH_4)_2$ por cada gramo de materia reductora; se reajusta el pH a 4,5-5, si ello es preciso, y se esteriliza a 100°C (vapor fluyente) durante media hora. A continuación se filtra nuevamente y esteriliza a la misma temperatura y tiempo.

El $SO_4(NH_4)_2$ añadido da lugar a que el prehidrolizado que se utiliza como «mosto diluído», después de su total preparación, tenga un número formol medio de 4,5.

Los «mostos fuertes» se diluyen hasta el 2 % (peso/volumen) en materias reductoras y se adicionan de «cebada-steep» (2), en la proporción del 1 % (volu-

(2) Para la preparación de la cebada steep seguimos en líneas generales la técnica dada por R. Winston Liggett y H. Keeffler —Bact. Rev. 12-297— para la preparación del corn-steep: A los granos de cebada se adiciona, hasta cubrirlos por completo, una solución de bisulfito sódico que contiene 2 gramos de SO_2 por cada litro. El líquido y los granos de cebada, en remojo, se mantienen en estufa a 45° C, durante treinta y seis horas. Pasado este tiempo se separa el líquido, a través de un tamiz de seda, y se envasa en un recipiente cerrado, de forma alta, en el que se siembran lactobacterias (Lactibacterium delbrüchii, en cultivo puro o, más sencillamente, Joghurt) y se conserva durante cuarenta horas a la temperatura de 46° C. Terminado este período de fermentación se filtra el líquido y se concentra al vacío hasta que contenga una proporción de materia seca del 50 por ciento.

men/volumen), concentración y proporción encontrada como óptima para la multiplicación que nos ocupa.

2.—**Siembra.**

Previo rejuvenecimiento de la cepa de Torulopsis utilis (var. magna de Thaysen) (3) en mosto peptonado al 2 % durante cuarenta y ocho horas, se centrifuga y lava con agua estéril, resembrándola en un prehidrolizado diluído, «mosto débil», de características idénticas al que va a servir para la multiplicación definitiva, aireándolo durante veinticuatro horas con una placa filtrante número 3 (Jena) a la temperatura de 28-30° C.

Antes de proceder a la siembra definitiva, se centrifuga y lava con agua estéril, adicionándola a la cuba de multiplicación, que contiene el prehidrolizado diluído y preparado, en la proporción de 0,15 gramos de materia seca por cada 100 c.c. de medio, que aproximadamente corresponde a 100.000.000 de células por c. c.

3.—**Aireación.**

El sistema de aireación, de tipo nebulizado, se logra inyectando aire estéril, previo paso por dos frascos lavadores con mezcla crómica y filtración por columna de algodón, a través de placas filtrantes número 3 (Jena) o de porosidad equivalente a la del citado número.

La proporción de aire es de 20 litros a la hora por cada 100 c. c. de medio de cultivo, controlándose su paso por un contador de aire y un manómetro de mercurio.

4.—**Temperatura.**

Se mantiene la multiplicación a 28-30° C, mediante regulación eléctrica.

5.—**Resultados obtenidos en la multiplicación.**

En las condiciones «standard» que hemos apuntado se obtiene un factor horario medio de multiplicación de 0,21, satisfactorio si se le compara con el obtenido por otros investigadores, con Torulopsis utilis número 3 sobre «azúcares de madera» (0,19-0,23), con un tiempo de agotamiento de veinte-ventitrés horas y un rendimiento aparente medio del 56 %, si se refiere la materia seca producida a las reductoras consumidas, cifra esta última algo elevada si se la compara con las de otros substratos, pero de cuyo significado se ha ocupado también la Sección de Fermentaciones Industriales en un

(3) La estirpe de esta cepa, traída directamente de los Teddington Laboratories, nos fermenta, aunque lentamente y en pequeña proporción, la glucosa y la levulosa y no lo hace con la maltosa, sacrosa y lactosa. La Sección de Levaduras del Instituto de Microbiología General y Aplicada, de donde proceden todas las que se ensayan en la Sección de Fermentaciones Industriales, está en la actualidad procediendo al estudio de esta estirpe,

trabajo que por su volumen se sale de nuestro propósito y será objeto de una nueva Comunicación.

RESUMEN

Los autores, después de larga serie de experiencias, han llegado a concretar la técnica de proliferación de la Torulopsis utilis (var. magna de Thaysen) sobre prehidrolizados ácidos de carozos de maíz (mazorcas desgranadas), logrando poner a punto un proceso i n d u s t r i a l i z a b l e de fabricación de levaduras alimenticias.

SUMMARY

After a long series of experiments the authors were able to establish the proliferation technique of Torulopsis utilis (var. magna de Thaysen) on prehydrolized acid corn cobs and succeeded in devising a manufacturing process for the production of food yeasts.

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA GENERAL Y APLICADA
SECCION DE BACTERIOLOGIA
C. S. I. C.

FORMAS MICOSICAS EN LA CONJUNTIVA TRACOMATOSA

A. Socías.

En diversas comunicaciones hemos ido recogiendo motivos para establecer una teoría micósica del tracoma, que hemos resumido en un reciente trabajo publicado (1). En otra publicación dimos una interpretación sobre determinadas células que se encuentran en las granulaciones del tracoma, según la cual tales células corresponden al parásito y no al huésped. (Reproducimos más adelante la parte que aquí interesa de dicha publicación, y para las microfotografías véase el original (2) (*). Tales células se encuentran siempre en las extensiones de la parte lardácea que salta al presionar las granulaciones en fase T-2. Ahora bien, la forma de tales células no incita por sí misma a sospechar su naturaleza micósica, y buena prueba de ello es que los numerosos autores que han tratado de la anatomía patológica del tracoma, así como de su etiología, siempre han admitido e interpretado que son células del huésped. Para nosotros fué preciso que la epidemiología nos diera la intuición de una etiología micósica para ver que tales formas celulares correspondían al parásito y no al S. R. E.

En esta comunicación presentamos un caso en el que no cabe duda sobre tal naturaleza y además nos da luz para comprender que estábamos en lo cierto cuando establecimos la interpretación dicha.

(*) En relación con estas formas, en 1941 hicimos la descripción que sigue sobre una supuesta forma microscópica del agente infeccioso del tracoma, que considerábamos como localizada, en muchas ocasiones, intranuclearmente. Decíamos: Los corpúsculos de Rá tendrán, además, según nosotros, otra manera de evolucionar, penetrando en el interior del núcleo celular. Esta evolución intranuclear, que hoy día la consideramos muy frecuente, es de difícil observación por confundirse tales corpúsculos con la cromátina nuclear. Cuando con la extensión se rompen las células parasitadas es cuando se observan más fácilmente, constituyendo entonces lo que llamamos conglomerados secundarios, que no serían más que los conglomerados primarios agrupados mediante la sustancia nuclear.»

«Estos cuerpos diferenciados se encuentran en gran frecuencia colocados intercelularmente en los frotis de los granulomas y eran a los que en nuestra comunicación de 1935 nos referimos verdaderamente, suponiendo entonces que

Nuestros estudios de laboratorio se han orientado siempre hacia el folículo —la llamada granulación— que se encuentra principalmente en el tipo T-2 y salta fácilmente a la presión del rodillo. Ahora bien, ésta es sólo parte de la lesión anatomopatológica de la enfermedad y hay que reconocer que en general los autores al presentar microfotografías o dibujos de la anatomía histo-patológica del tracoma han tenido una predilección por aquellos campos en que se encuentre una de estas granulaciones. Si observamos muchas preparaciones de cortes nos llamará la atención que es mucho menos frecuente de lo que parece ha de ser por las publicaciones el encuentro de estas granulaciones; es decir, que no son precisamente tales granulaciones lo más característico de la lesión histopatológica.

Hay que estudiar, pues, con detenimiento todo el corte de la biopsia de la conjuntiva tracomatosa y depositar menos confianza en la porción lardácea de la expresión. Esperábamos que así se nos podría definir mejor la naturaleza de la lesión en los cortes histológicos y en ellos usamos también la tinción con Giemsa.

Hemos observado más de sesenta casos mediante este procedimiento, y entre ellos hubo uno que fué aleccionador por completo. A este caso corresponden las figuras que se indican.

En ellas, sin ningún género de duda, pueden verse una serie de formas que corresponden plenamente a las de un micelio y demás formaciones de un moho. El tejido en su corte es muy friable y tiene una facilidad grande

---

tan sólo procedían del protoplasma de las células, una vez rotas por la violencia del frotis, mientras que hoy consideramos que en una gran parte proceden del núcleo. Las formas más frecuentes en el interior del núcleo son también los cuerpos diferenciados, siendo, como ya hemos dicho, su discriminación de la cromatina nuclear difícil. Es posible que esta sea la causa de que su presencia hasta el presente no hubiese sido descrita por ningún autor. Ahora bien, lo que para nosotros tiene un singular interés es la presencia intranuclear de una especie de ciclo evolutivo, que si bien no es abundante, es muy característico y significativo, habiéndole tan sólo encontrado intranuclearmente o en el exterior, pero debido entonces a la rotura de éstos. Son formaciones redondas u ovales que recuerdan en gran número las formas de las levaduras, mucho más aún por una doble pared real o aparente que puede verse distintamente en la fig. 1. Estas formas unas tienen su interior coloreado homogéneamente y otras están formadas o rellenas de un núcleo de granulaciones también redondas u ovales de tamaños diversos y que le dan un aspecto moruliforme. Recuerdan los quistes del género Coccidioides del orden de los Ficomicetos.»

«En el caso de la microfotografía de la fig. 1 se nos presentó desde un principio la duda de si la forma oval que contienen los elementos esferoides de doble pared era un núcleo de célula del huésped o si era un elemento de naturaleza distinta. Hoy nos hacemos partidarios de este segundo concepto. Queremos decir que no hay núcleo, sino que se trata de un elemento quístico, asca o algo similar, que contiene en

en deshacerse, como corresponde a un seudo tejido compuesto por hifas sin trabazón, como es el caso del tejido carnoso de los hongos macroscópicos, que, como es sabido, está constituído por un pseudo-parénquima. Corresponde a la figura 1.

En las figs. 2 y 3 pueden verse con toda claridad los artejos de un micelio, muchos de los cuales guardan la morfología corespondiente a un cultivo aéreo de un Aspergillus. De todas maneras, con fijarnos un poco se pueden ver formas de algunos de estos artejos que no están en cadena, sino aislados, y que en vez de tener una forma correspondiente a un cilindro la tienen esferoidal o en calabaza. Esto representa un momento de transición.

En la fig. 4, al lado de las formas como las últimas antes descritas, se pueden ver una serie de células deformadas por la comprensión de unas con otras y cuyo protoplasma está teñido irregularmente. Tienen un aspecto alargado y tendiendo a fusiforme en muchas de ellas. Sería un paso más en la transición.

En la fig. 5 puede verse cómo este último tipo de células están reunidas en hacer curvados y forman casi un tejido apretado. Más hacia el centro de la preparación estos haces se separan por dehiscencia de otra interior que envuelven.y está teñida de un tono mucho más oscuro, como puede verse en la figura. 6. Estas células separadas pueden observarse en la fig. 7, en su parte central especialmente, así como en la fig. 8. Llamamos la atención sobre estas formas por su relación, que estableceremos más adelante.

---

su interior formas esporadas del agente etiológico. Es sabido que las esporangiosporas, ascosporas, etc., tienen doble pared, al igual que las formas de la microfotografía en cuestión. Ahora bien, estas formas con doble pared no tan sólo se presentan dentro de su asca en múltiples de nuestras preparaciones, sino que también fuera, es posible que por maduración o bien por rotura en la extensión. Estas esporas, según esta morfología, no serían muy frecuentes; en cambio sí lo son los elementos quísticos o ascales —con estos nombres queremos denominar un receptáculo lleno de esporos o elementos parecidos, sin darle clasificación botánica morfológico-fisiológica. Estos receptáculos serían abundantísimos en el centro de la granulación tracomatosa, y si hasta el presente no se han descrito como tales, debe atribuírse a que se han confundido con núcleos o con células enteras del huésped —linfocitos, mononucleares, histiocitos, etc.—. Esta confusión es consecuencia de que tales formas, en muchos casos, se rodearían de una envoltura de sustancia segregada, bien por la misma célula-parásito, bien como reacción de las células del organismo huésped enfrente del parásito. Así sucede con el Sacharomyces tumefaciens, que Curtis encuentra en un tumor mixomatoso, donde tiene el parásito una capa envolvente gelificada de más de 10 micras de espesor, siendo la célula de 16 a 20 micras. Esta envoltura no se consigue en los cultivos in vitro de la levadura. De esta manera, estas formas de la granulación que acabamos de describir se parecen grandemente a una célula con su protoplasma y núcleo.»

«La interpretación que le damos a tales formas seudocelulares es como sigue:

Al margen de la preparación y separada un poco del resto del tejido en general hemos visto unas formaciones, las correspondientes a las figs. 9 y 10. Las figs. 11 y 12 son detalles de las mismas vistas a mayor aumento. Nosotros interpretamos estos cuerpos como correspondientes a peritecios en su juventud. En ellas se distinguiría la parte periférica, que sería el micelio envolvente y la parte central el oogonio en desarrollo.

Con el hallazgo de estos cuerpos interpretamos la preparación en conjunto como una serie de peritecios en mayor o menor desarrollo. El resto de la preparación, fuera de estos cuerpos, sería un gran peritecio en pleno desarrollo, de un Aspergillus (Eurotium), cuya parte central está formada por las células oscuras de las figs. 6, 7 y 8.

En la fig. 13 hemos fotografiado el detalle de unas células que, como puede verse, tienen una gran aureola refringente y que se encuentran distribuídas al azar por la parte miceliar del peritecio desarrollado. Sospechamos que pueda tratarse de la iniciación de nuevos peritecios.

Esta preparación, de un interés extraordinario para nuestros estudios, corresponde a la Estirpe número 40, cuya siembra hemos comentado anteriormente (3) y que nos daba un Aspergillus. Esta estirpe es la única que ha dado un Eurotium, o sea un Aspergillus con formas sexuadas. Suponemos que a esta particularidad se debe que tenga esta morfología tan típica en células micósicas.

En esta preparación puede observarse cómo las células de protoplasma gra-

a) de una materia capsular que correspondería, en cuanto a su analogía formal, al protoplasma de una célula; b) de un asca o similar que correspondería al núcleo celular, y c) de los ascosporos que corresponderían a los que en el año 1941 describíamos como formas parasitarias intranucleares. Este conjunto pleno no se daría más que contadas veces, porque, por lo regular, cuando el asca está repleta de ascosporos estaría en una fase donde la envoltura habría ya desaparecido; en cambio, sí es frecuente la fase en que hay envoltura capsular y asca, sin distinguirse en su interior ascosporos y quedando más fuertemente teñido que un núcleo celular y con carácter homogéneo; es en este momento cuando la confusión con una célula del huésped es facilísima, por su parecido extraordinario.»

«En más de un frotis de granulaciones hemos encontrado una gran masa sin parcelamientos y de aspecto como si estuviese constituída por sustancia mucoide y contuviera, envolviéndolas, formas ovales grandes, que pueden tener 15 y más micras de diámetro. En tales casos difícilmente se podría interpretar el panorama microscópico como un conjunto de células con protoplasma individual a cada núcleo, ya que sólo se encuentran los tales núcleos reunidos por el magma de la sustancia mucoide segregada; en todo caso tendría que describirse como una célula gigante descomunal. Nosotros lo interpretamos que son formas ascales reunidas y englobadas por sustancia mucoide segregada. Es el caso que puede verse en las figuras 2 y 3, especialmente en esta última. En ella se ve cómo muchas de las formas ovales están pegadas unas a otras, sin que las separe porción protoplasmática o membrana alguna.»

nuloso, en un avance de su desarrollo o transformación, tienen los bordes no bien definidos, como si llegado el momento se deshiciesen en una masa algodonosa; si se analiza a mayor aumento —1.200 diámetros— se ve que están integradas por formas que se observan en la mayoría de frotis de folículos tracomatosos exprimidos, que tienen un parecido con los microorganismos de la Colonia Tipo (a'') y (b') (3). En ciertos campos de la preparación en cuestión no cabe duda que se trata de formas bacterianas.

Hemos dicho que el caso anterior es excepcional. Lo normal es que en todos los cortes histológicos de la lesión tracomatosa en fase T-2 veamos una serie de células que se colorean intensamente por el Giemsa, situadas en medio de un tejido que se decolora mucho más fácilmente. Este tipo de células a veces se encuentra reunido en grupos, y otras, más o menos aislado, tienen una forma esferoidal y muchas veces aovada, o bien más raramente en calabaza. Tienen una gran semejanza con las que hemos descrito al tratar de las formas seudo celulares y nosotros las interpretamos como correspondientes al parásito y no al huésped. Es muy frecuente que se encuentren principalmente bien definidas en la misma periferia de la preparación correspondiente a la conjuntiva libre. La mayoría de estas formas son de tinción intensa y uniforme y no pueden distinguirse núcleo y protoplasma. Véanse las figs. 14, 15 y 16.

En una fase más avanzada estas células se ven, según hemos descrito antes,

---

«En casi todos los frotis puede observarse, de una manera muy distinta del resto, formas aisladas de estas a s c a s rodeadas de la capa mucoide, que, como hemos dicho, tienen un parecido tan grande con la célula y su nucleo, que hemos dudado durante mucho tiempo sobre su naturaleza. Las figs. 4 y 5 son un ejemplo típico de tales formas. En cambio, en otros casos (fig. 6), en su parte central, hay una forma oval en la que con dificultad se ve en su centro una figura elipsoide que llena casi todo el espacio; estas formas sólo difícilmente podrán pasar por ser una célula y su núcleo. En la fig. 7 se ha pronunciado más la falta de diferenciación entre célula y núcleo y, aparte de su tamaño gigante, puede observarse que el supuesto protoplasma contiene formas más o menos esféricas, unas coloreadas y por tanto oscuras y otras refringentes, siendo estas últimas muy abundante. (Fig. 6.)»

«A veces se ven masas oscuras con una envoltura menos densa y además sin límite claro externo, y dan completamente la sensación de sustancia mucoide. (Fig. 8.)»

«En la fig. 9 se pueden ver n ú c l e o s (!) bien destacados, en los cuales no existe la más mínima cantidad de p r o t o p l a s m a (!) a su alrededor y no pueden tomarse como células de gran núcleo y escaso protoplasma ni, al revés, de gran protoplasma y escaso núcleo, porque en su interior sólo se ven granulaciones más o menos desiguales de tamaño y que recuerdan las formas vistas en la fig. 10. Este contenido granuloso era más distinto y claro en la observación directa al microscopio que en la microfotografía. En esta misma figu-

como células alargadas y apretadas y de contenido granuloso, pero aquí no forman entre sí un seudo parenquima, sino que están más o menos aisladas y son menos aparentes las impresiones de las unas sobre las otras, y conservan más o menos su forma, según acabamos de describirlas; son esponjosas en su contenido y se tiñen mucho menos intensamente. (Fig. 17.)

En muchos casos se puede observar cómo si estas formas en vez de ser homogéneas o bien esponjosas, se tratase de una envoltura con la forma primitiva y repleta de granulaciones bien definidas. (Figs. 18 y 19.) En otros campos de la misma preparación, o bien en preparaciones distintas, estas granulaciones de tamaño que va desde los límites de la visibilidad hasta formas esféricas de tamaño de cocos y aún mayores, están agrupadas pero claramente libres de una envoltura que las contenga y reúna. Es frecuente ver cómo muchas de estas formas tienen un aspecto alargado, como de un bacilo o vírgula finísimo más o menos envuelto por un halo refringente. Estas formas corresponden a los llamados por varios autores elementos rickettsoides y al Clamydozoon trachomatis (*) del «Bergey's Manual of Determinative Barteriology». (Figuras 20, 21, 22 y 23.)

---

ra, a la derecha y más abajo que las anteriores, se observa una célula (!) que correspondería a una formación mucoide sin diferenciación ascal, correspondiente al núcleo (!). Fig. 10.»

«Estas formas que acabamos de describir, que se ven en los frotis de la sustancia lardácea tracomatosa, las interpretamos como pertenecientes a un ciclo evolutivo del parásito que, por lo dicho hasta aquí, se desprende fácilmente, pueden pertenecer a la morfología de un organismo de los Eumicetos en sus fases perfecta o sexuada e imperfecta. Quedan aún otras formas de morfología

(*) *Clamydozoon trachomatis*, Foley y Parrot. (Rickettsia trachomae. Busacca; Arch. Opthalm. 52,1935,567; Foley y Parrot. Arch. Inst. Pasteur d'Algerie. 15, 1973,339; Rickettsia trachomatis, Foley et Parrot, ídem.) Así llamada por la enfermedad que produce: tracoma.

Cuerpos cocoides: microorganismos pequeños de 200 a 300 milimicras de diámetro en la forma de cuerpo elemental. Los cuerpos iniciales tienen sobre unas 800 milimicras de diámetro y también se encuentran formas de más de 10 micras. Todas las formas grandes se encuentran encapsuladas en una sustancia, que deriva bien del microorganismo bien del protoplasma de la célula parasitada. El cuerpo elemental es la unidad básica. Aparecen agrupaciones en parejas y cúmulos. Gram negativos. Se tiñen con dificultad con colorantes de anilina; con el Giemsa dan color azul o violeta y con el Macchiavelo dan azul o rojo, según su momento metabólico. La matriz de las marcas da una fuerte reacción del glicógeno. No móviles.

Cultivo: no han sido nunca cultivadas.

Aspectos inmunológicos: tienen uno o más antígenos en común o son al menos parecidos a los que tienen la Miyagavanella sp. Producen a baja concentración anticuerpos que fijan el complemento con antígeno de Miyagavanella lynphogranulomatis.

Patogenicidad: Patógeno para el hombre y monos en lo que afecta solamente a la córnea y a la conjuntiva, causando lesiones altamente destructivas. Susceptibles a la penicilina y sulfamidas.

Origen: se encuentra en raspados de córnea y conjuntivas tracomatosas.

Fig. 1.ª.—Corte histológico de una biopsia de conjuntiva tracomatosa. Tinción Giemsa. Pseudo-parénquima de naturaleza micósica.

Fig. 2.ª.—Artejos de micelio correspondientes a 2 en la microfotografía 1.ª

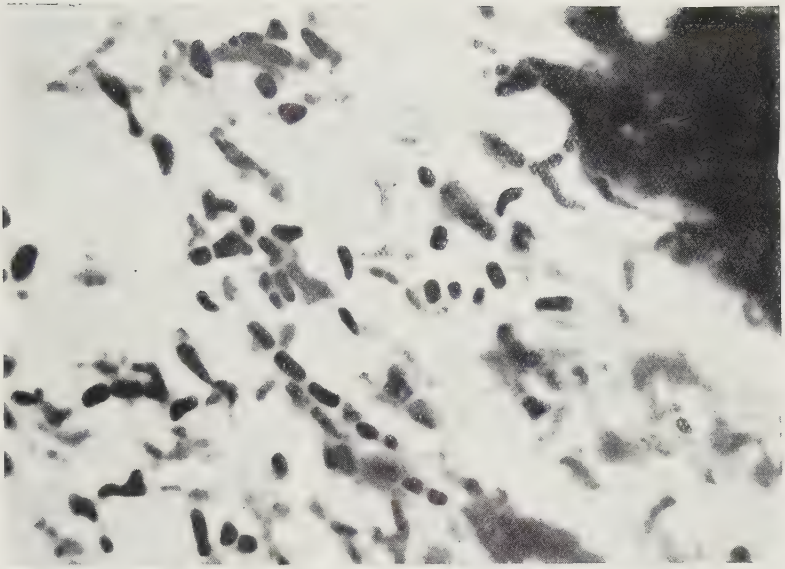


Fig. 3.ª.—Artejos de micelio típicos y otros más adaptados al medio; corresponden a 3 en la microfotografía 1.ª

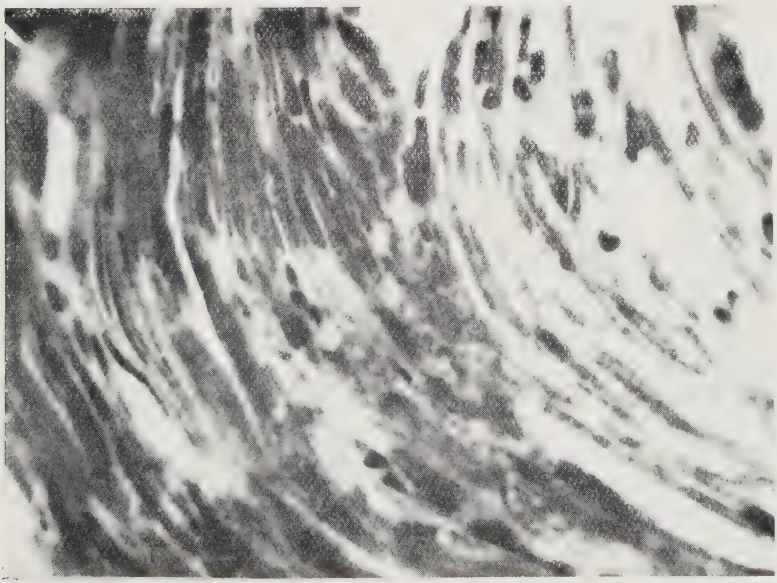


Fig. 4.ª.—Células micósicas en pseudo-parénquima presionadas unas con otras; corresponden a lo que parece ser pared del peritecio. Situadas en 4 en la microfografía 1.ª

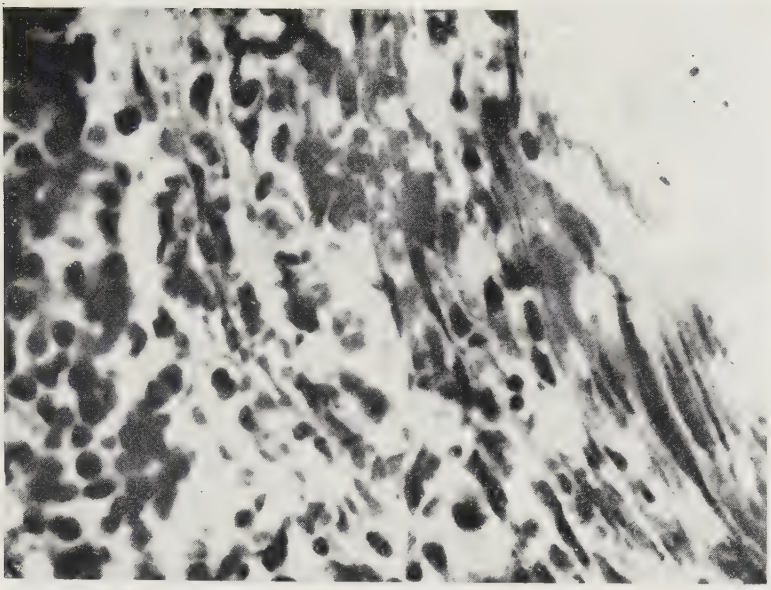


Fig. 5.ª.—Células micósicas en pseudo-parénquima presionadas unas con otras; corresponden a lo que parece ser pared del peritecio. Situadas en 5 en la microfotografía 1.ª

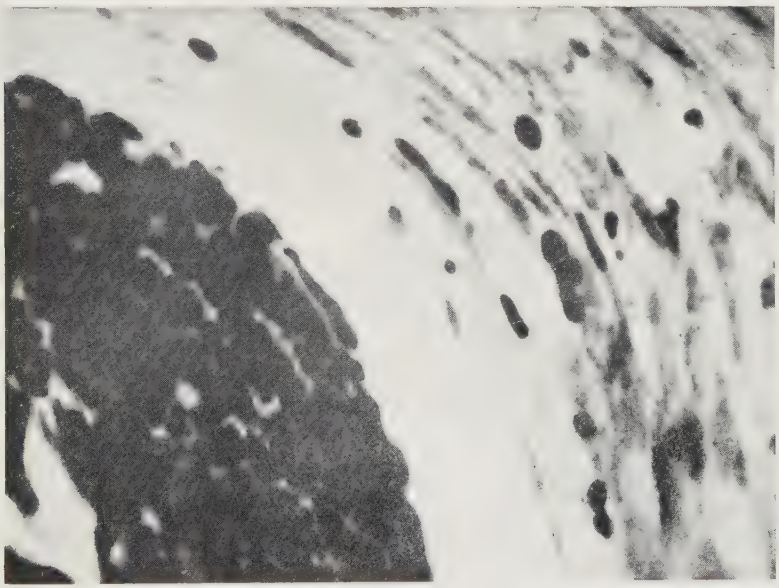


Fig. 6.ª.—Límite entre las células del interior del peritecio y las periféricas. Situadas en 6 en la microfotografía 1.ª

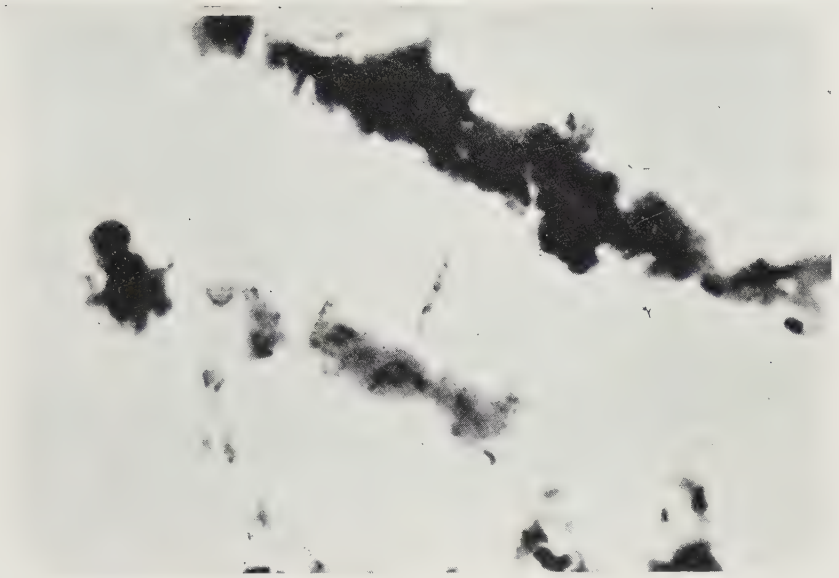


Fig. 7.ª—Detalle de las células del centro del peritecio. Situadas en 7 en la microfotografía 1.ª

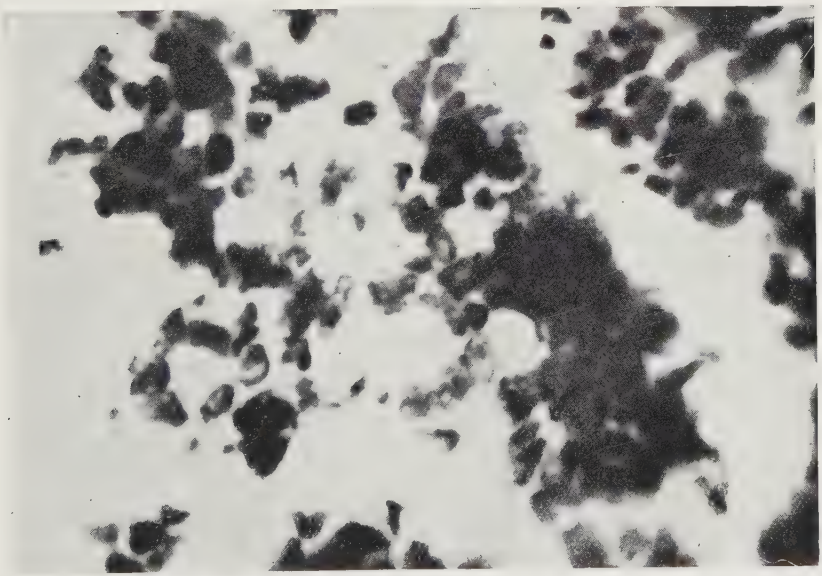
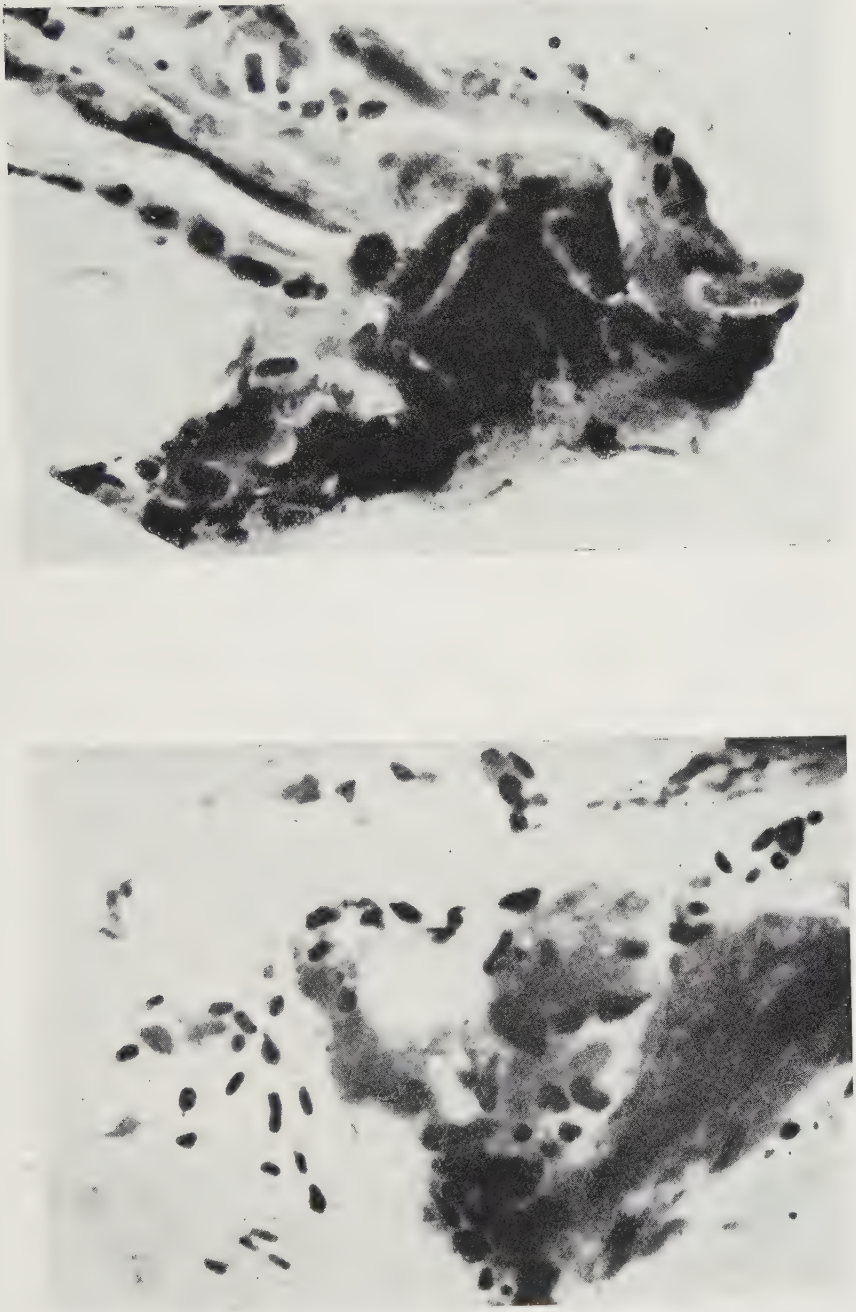


Fig. 8.ª—Detalle de las células del centro del peritecio. Situadas en 8 en la microfotografía 1.ª

Figs. 9 y 10.—Peritecios jóvenes (?).



Figs. 11 y 12.—Detalles a mayor aumento de la pared de los cuerpos de las microfotografías 9.ª y 10.ª

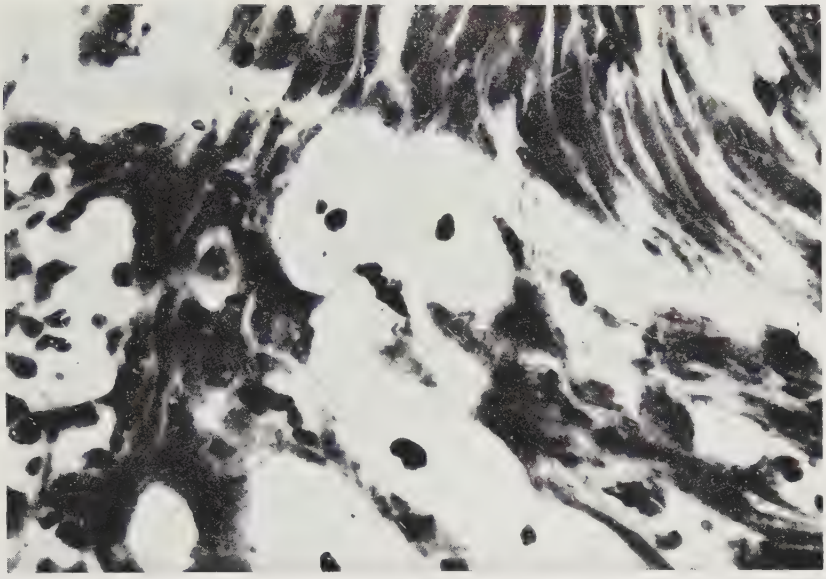


Fig. 13.—Células micósicas envueltas en un halo de sustancia que no admite el colorante. Inicios de peritecio (?). Situadas en 9 en la microfotografía. 1.ª

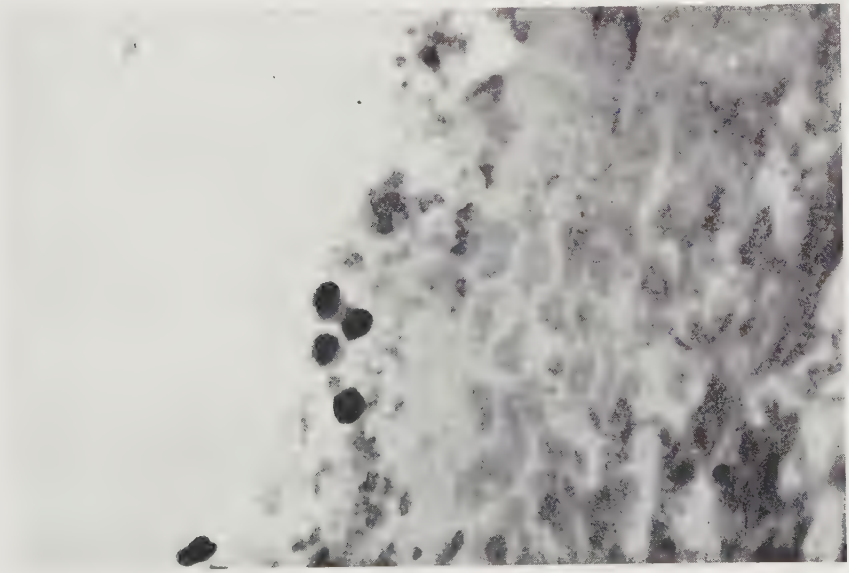
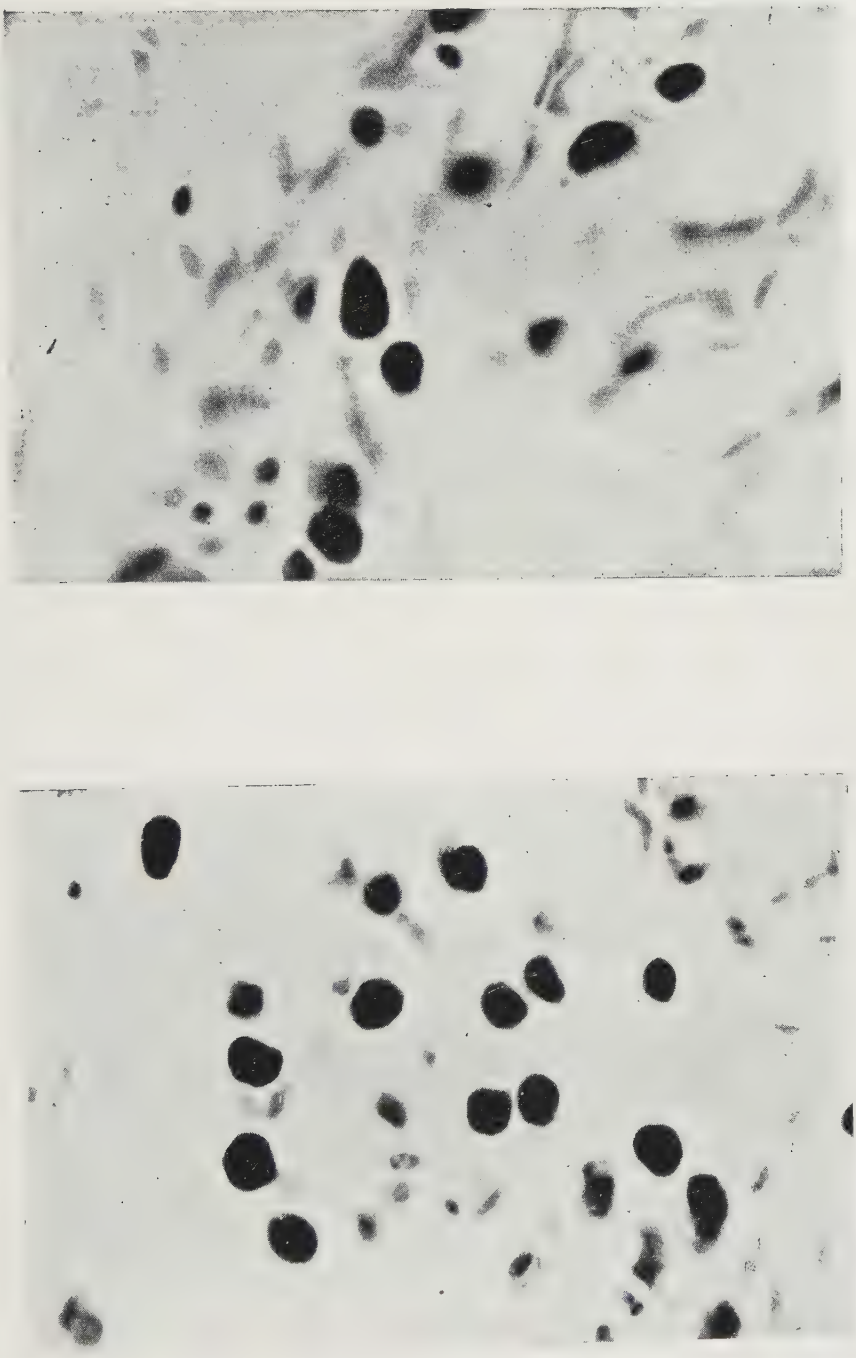


Fig. 14.—Corte de una conjuntiva tracomatosa en T-2. Giemsa. En el borde se observan unas células de protoplasma fuertemente teñido y que son de naturaleza micósica



Figs. 15 y 16.—Células de naturaleza micósica a gran aumento en una conjuntiva tracomatosa.

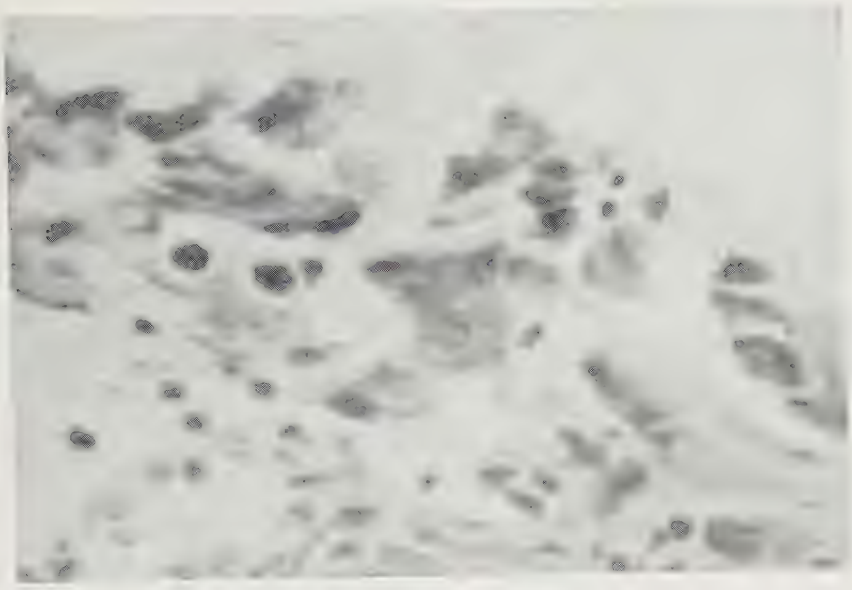


Fig. 17.—Células como las de las figuras 15 y 16 y otras con protoplasma esponjoso, también de naturaleza micósica.

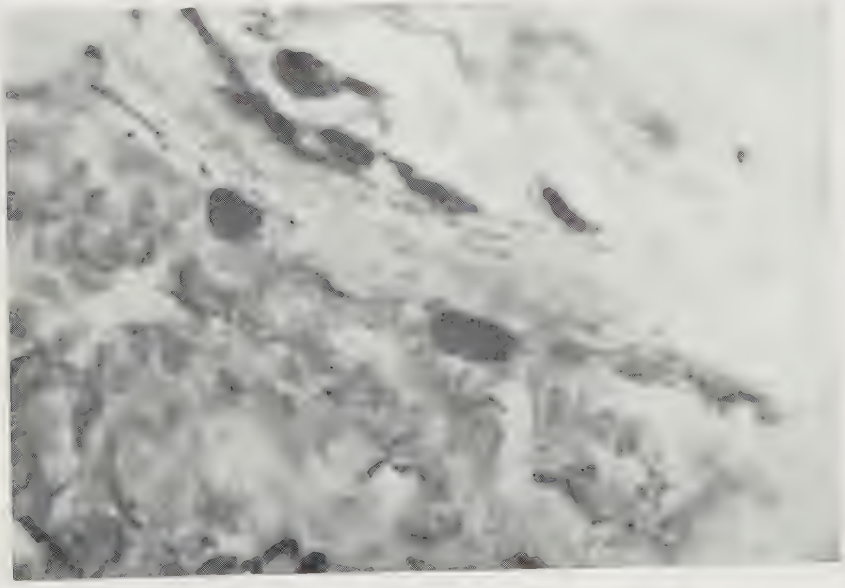


Fig. 18.—Células como las de las figuras 15 y 16, cuyo protoplasma se resuelve en corpúsculos independientes y bien discretos. Junto a ellas se ven tales corpúsculos libres.

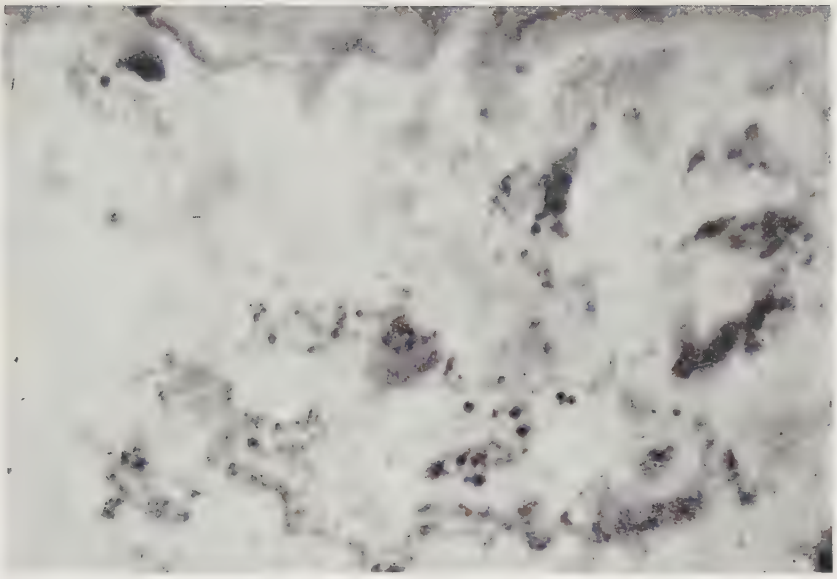


Fig. 19. Corpúsculos de tipo en coco y salterio de gran tamaño, de 0.2 a 0.5 micras.

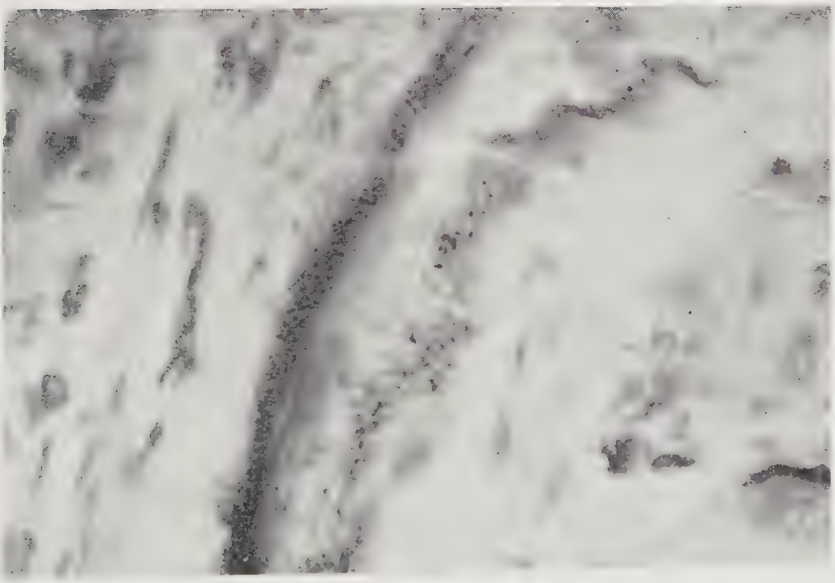
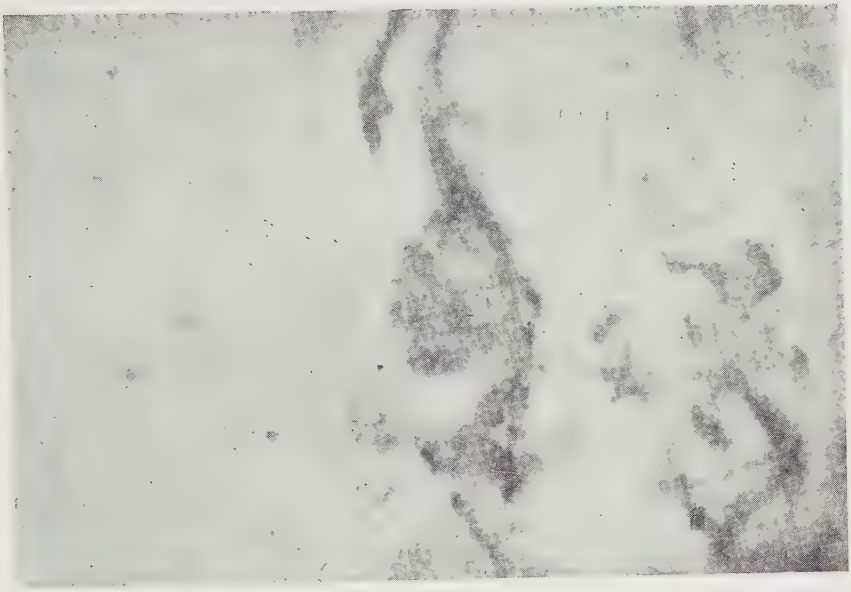
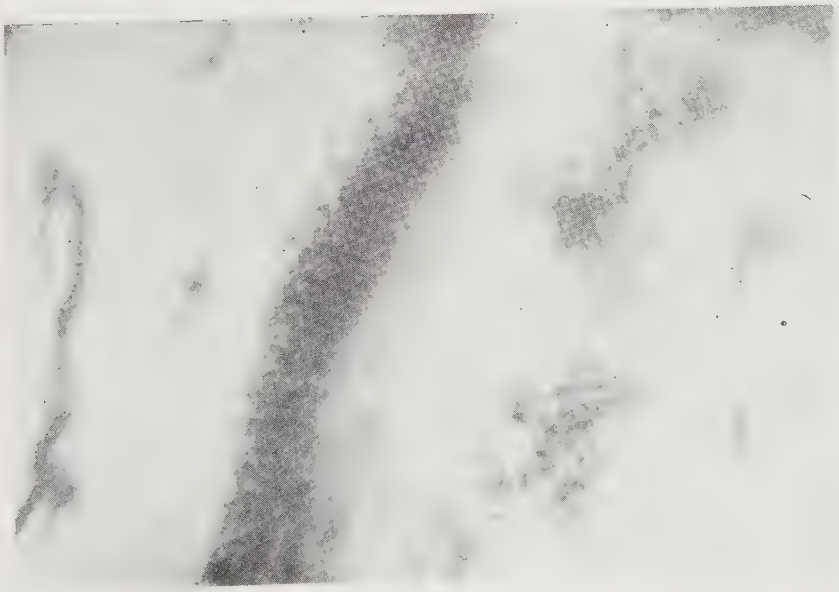


Fig. 20.—Corpúsculos libres de tamaños diversos hasta llegar a los mismos límites de resolución del microscopio. Formas en coco, salterio, vírgula y rickettsia.





Figs. 21 y 22.—Corpúsculos libres de tamaños diversos hasta llegar a los mismos límites de resolución del microscopio. Formas en coco, salterio, vírgula y rickettsia.

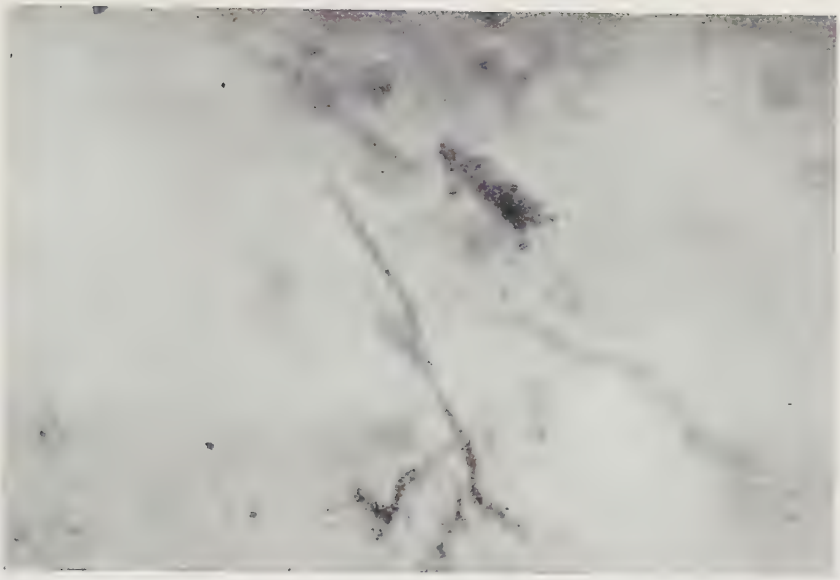


Fig. 23.—Corpúsculos libres de tamaños diversos hasta llegar a los mismos límites de resolución del microscopio. Formas en coco, salterio, vírgula y rickettsia.

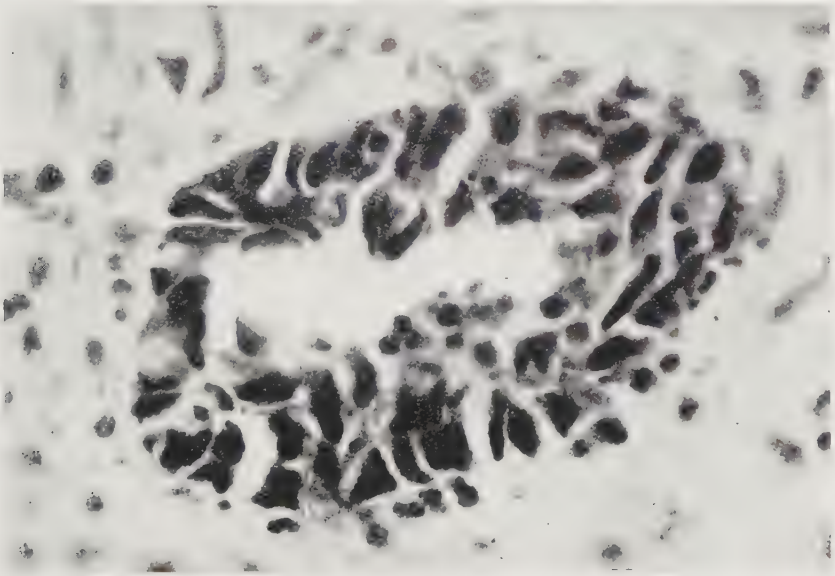
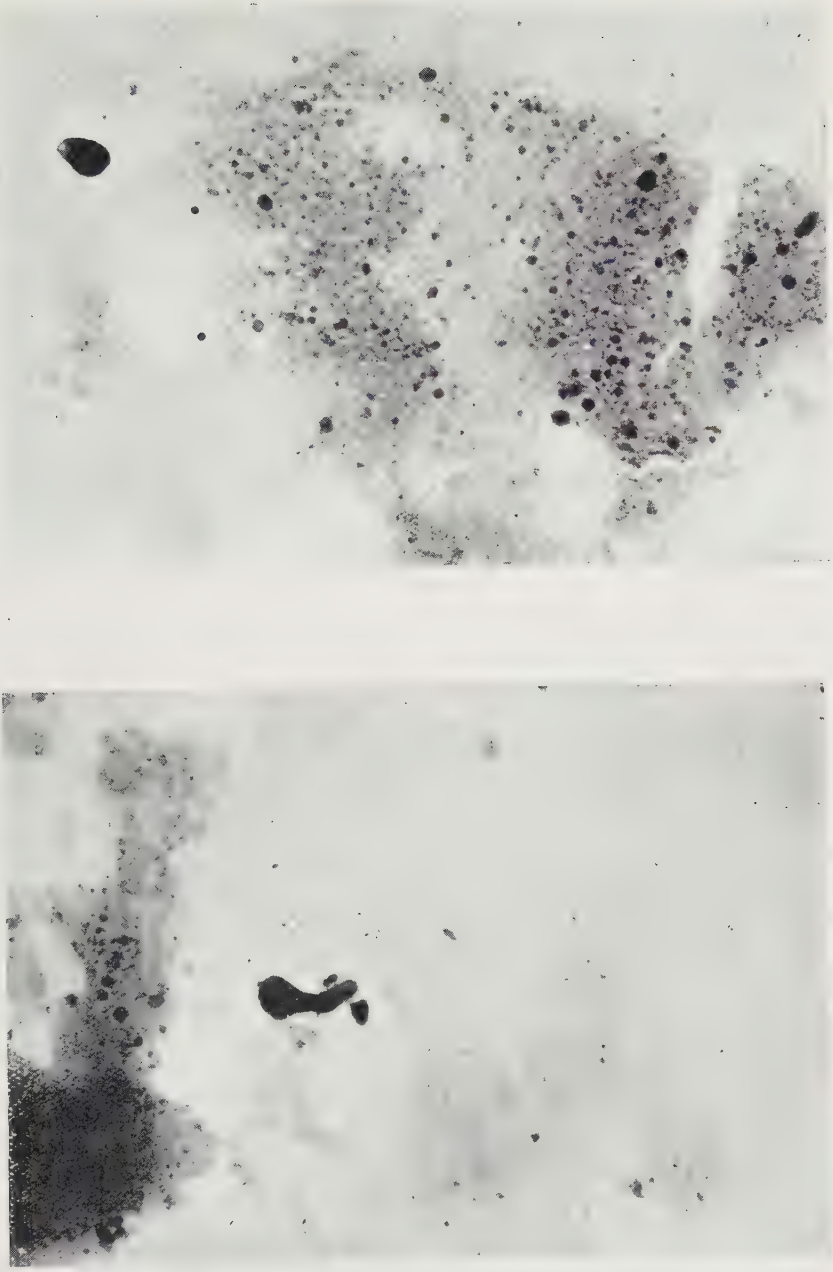


Fig. 24.—Corte de una de las llamadas glándulas de Ivanof. Nosotros la consideramos un peritecio. Obsérvese la semejanza de sus células con las que se ven en las microfotografías correspondientes a las figuras 2 a 7.



Figs. 25 y 26.—Proceden de colonias de tipo (a") y (b"). Se observan unas células grandes que cuando se desarrollan dan lugar a una colonia de Aspergillus. Compárese con las células de las figuras precedentes. Se ven corpúsculos libres, pero aglomerados, de distinto tamaño.

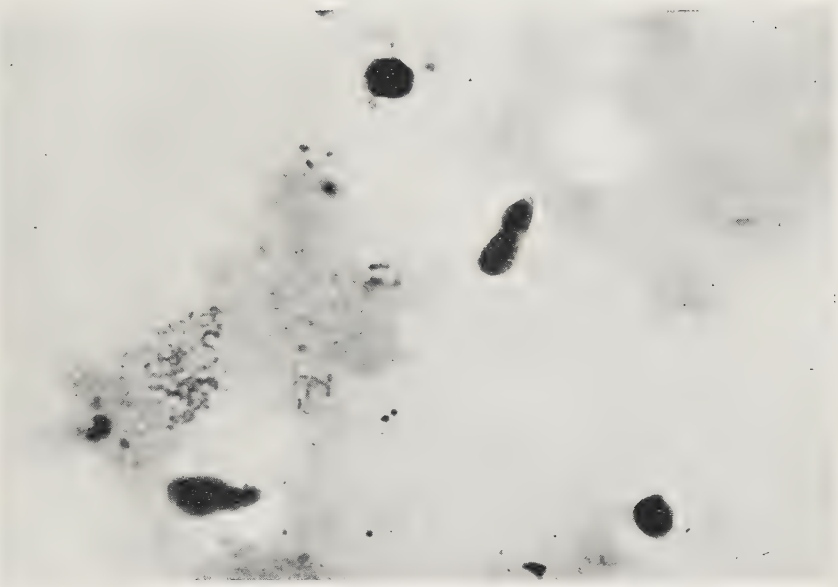


Fig. 27.—Como la anterior. Se ven corpúsculos libres y bien aislados de forma varia, siendo su mínima expresión un punto teñido; éstos corresponden a nuestros corpúsculos de Rá.

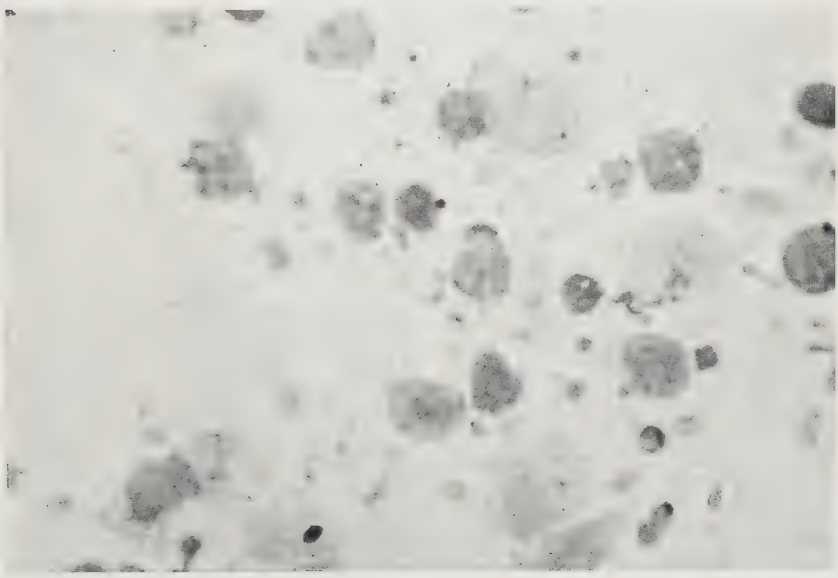


Fig. 28.—Frotis de una granulación tracomatosa, donde pueden verse corpúsculos de Rá, inclusiones, clamidozoon, cuerpos rickettsoides, etc.

En la literatura sobre la anatomía patológica del tracoma es bien conocido el término de Glándulas de Iwanoff. Sobre esta terapéutica dice Cange:

«En 1878 Iwanoff describió en la conjuntiva tracomatosa unas formaciones glandulares que por su frecuencia, su abundancia y su tenacidad explicarían la cronicidad del proceso, su resistencia a la acción terapéutica y su tendencia a las recidivas. a) En su forma más elemental se presentan como simples divertículos o profundizaciones superficiales del epitelio; b) En un grado más avanzado parecen glándulas tubulosas alargadas, provistas de una membrana basal soportando dos capas de células, redondas y cilíndricas, alrededor de las cuales hay una infiltración de células linfocitarias especialmente acumuladas en el fondo y en la embocadura. Estas últimas se organizan de tal modo que tienden a obstruir el canal excretor, y engendrarían: c) Los quistes de retención, que harían relieve en la conjuntiva y se confundirían fácilmente con la granulación auténtica; d) En fin, el grado más pronunciado de estas transformaciones está representado por las glándulas acuminadas resultantes de la transformación y producción de divertículos secundarios ramificados sobre el tubo inicial. Mientras que las granulaciones tracomatosas son pasajeras y transitorias, las glándulas tendrían una duración casi indefinida; la inoculación purulenta provocada causaría su desaparición: de esta manera se explicaría la acción curativa de este método terapéutico. Al mismo tiempo que Iwanoff, Berlín describía unas

---

mucho más simplificadas que serían resultantes de una perfecta adaptación parasitaria del microorganismo enfrente del huésped. Estas formas se presentan en la microscopia del granuloma y toda una serie de autores las vienen denominando formas rickettsoides... A estas formas las denominamos corpúsculos de Rá.»

«En las figs. 11 y 12 pueden verse dos microfotografías correspondientes a un solo caso de tracoma y hechas según la técnica corriente; se ven imágenes abundantes y claras de las formas antes tratadas; pero el interés capital de estas preparaciones estriba en que estos corpúsculos están englobados dentro de un magma mucoide, que a la vez envuelve gran número de formas ascales —núcleos (!)—, según nuestra anterior descripción, sin que se vea ninguna célula de naturaleza linfoide. ¿Qué relación existe, pues, entre estas formas casi ultramicroscópicas y las otras que miden muchas micras? En las microfotografías es muy difícil poder observar que las formas ascales contienen en su interior gran número de los pequeños corpúsculos, pero se distinguen fácilmente en la mayoría de los casos mediante la observación directa al microscopio y tienen el mismo aspecto que las que se encuentran fuera, o sea intercelularmente, por la causa que sea; de aquí que nosotros consideremos que tales corpúsculos proceden siempre del interior de los ascos, aunque esto no empece que estos mismos corpúsculos puedan desarrollarse por esciparidad fuera de los ascos. Según esto, todas estas formas descritas corresponderían a momentos distintos de un ciclo evolutivo que, por consiguiente, en ciertos momentos,

lesiones idénticas y, por consiguiente, se asociaron estos dos nombres para designar tales glándulas.

Las objeciones en contra de esta teoría no han faltado; en un principio hay que tener en cuenta que estas glándulas son inconstantes; por otra parte pueden mostrarse en estados patológicos, inflamatorios o no, distintos del tracoma, y hasta su naturaleza glandular ha sido discutida seriamente.

En 1874 Remy describió imágenes microscópicas análogas, pero dió de ellas interpretación distinta; las consideró como pseudo-glándulas resultantes de depresiones interpapilares tapizadas con su epitelio. Muchos otros investigadores las han encontrado, y unos opinan que sólo tienen la apariencia de glándulas y procederían de una exageración de los pliegues normales de la capa epitelial, hundiéndose más o menos entre las vegetaciones papilares y las crestas foliculares. Para otros observadores se trata de glándulas verdaderas procedentes de células pertenecientes a los acini normales o bien de elementos epiteliales del fondo de los surcos interpapilares.

Las ulteriores investigaciones de Röehlmann le han llevado a adoptar una opinión mixta. Serían en un principio consecuencia de pliegue en acordeón de la mucosa tracomatosa que luego se invaginaría como los surcos de Stieda. Por otra parte podrían proceder de una neoformación glandular auténtica, mas esto sólo se daría en la fase en que hay úlceras foliculares. Según el autor citado, en

---

tendrían tallas muy grandes —veinte micras y más—, no correspondiente, por tanto, ni mucho menos, a un virus filtrable, pero sí posibles productores de él, lo que tendría extraordinario interés».

«La morfología del agente etiológico quedaría resumida, según nosotros, del modo siguiente»:

«a) Formas de gran tamaño seudo-celulares que con el Giemsa se colorean de azul-violeta y que tienen un contenido francamente granuloso constituído por unidades independientes. Para esta forma no admitimos la denominación de inclusión, desde el momento que no están dentro de ninguna célula, y si tal parece es debido a que están envueltas o se rodean de una especie de cápsula mucoide, y por haberse confundido ésta con el protoplasma por la mayoría de los autores no es de extrañar que el conjunto se haya considerado como una célula con inclusiones. Por tanto, creemos se las debe denominar cuerpos seudo-celulares del tracoma de naturaleza parasitaria mejor que células del tracoma, que parece involucrar una naturaleza celular procedente del huésped.»

«b) Formas de tamaño bacteriano —de una a ocho micras de longitud— de morfología más o menos bacilar, a veces con extremos más coloreados que el resto y siempre con irregularidades de tinción, ya que unas veces se quedan sin tomar los colorantes, y por tanto refringentes, y otras fuertemente teñidas en azul-violeta. Estas son las formas que les cuadraría la denominación de cuerpo rickettsoide, ya que en muchos casos tienen una semblanza morfológica grande con las rickettsias, especialmente cuando son extraascales y se encuentran dentro de la sustancia mucoide».

cuanto el nódulo tracomatoso evacua su contenido deja una cavidad que luego se convertiría en glándula.

Sea cual fuere el significado de estas glándulas, parece que no tienen ningún valor específico, ya que pueden observarse en estados irritativos, en inflamaciones crónicas y hasta en el ectropion banal.»

Nosotros, en más de un caso, hemos creído poder identificar tales formaciones con la primeramente descrita correspondiente a un peritecio. No tendrían el desarrollo tan completo como en tal caso. Puede verse un corte de una de éstas (fig. 24), y ciertas de sus células las identificamos con las descritas hasta aquí. Las correspondientes al centro por la presión ejercida al realizar la biopsia serían expulsadas y de aquí la causa de la semejanza con una formación glandular.

Como decíamos, pues, en la introducción, tenemos:

a) Por los estudios que hemos realizado sobre la epidemiología del tracoma (1), podemos establecer la hipótesis de la etiología micósica del tracoma.

b) Por la microscopía de los frotis de las granulaciones debidamente interpretadas se refuerza tal hipótesis al encontrar unas células que son del parásito y no del huésped (2).

«c) Formas diminutas de media micra de diámetro, que si se colorean mediante el Giemsa toman matices que van del violeta púrpura al naranja. Suelen estar formadas por dos partes: una central puntiforme con tendencia al violeta y una periférica de coloración naranja o sin colorearse y refringente. Esta disposición es la causa de que el conjunto tenga un gran contraste y, por tanto, pueda distinguirse con una cierta facilidad, que no tendría de no existir. Bajo esta morfología se presentaría el primer momento visible al microscopio del parásito en su fase de ultra virus y a la vez procederían de las formas antes descritas y serían precisamente estas formas c) las verdaderamente capaces de parasitar el protoplasma de las células del huésped, integrantes principalmente de la capa externa del granuloma tracomatoso; serían, por tanto, la manifestación morfológica de la fase del parásito más altamente parasitaria, con lo que queremos decir que dependerían estrechamente del fisiologismo de la materia constituyente del protoplasma celular. Estas formas pueden compararse a los corpúsculos elementales de von Prowaczek y es posible que a la misma denominación de Poleff, según su descripción aparecida en 1942 en Archiv fur die Gesamte Virusforschung. En la que nosotros, en 1941, denominamos corpúsculos de Rá, y que consideramos no pueden subsistir fuera del protoplasma, y, por tanto, no pueden coincidir con los corpúsculos elementales libres de Poleff. Con bastante frecuencia, más que estas formas puntiformes aisladas, se pueden observar dentro del protoplasma celular filamentos apelotonados en ovillo más o menos apretado y que tienen las mismas características de disposición de su sustancia constitutiva que la de los elementos puntiformes. No estarían estos filamentos formados por eslabones unidos —siendo los elementos puntifor-

c) Por los cortes histo-patológicos de la conjuntiva tracomatosa, en determinados casos no cabe lugar a duda, según lo expuesto en esta comunicación, que hay formas correspondientes a las células de un moho, lo que confirma la interpretación del apartado b).

d) Por las deducciones hechas de las siembras de granulaciones y las colonias que de ellas nacen, según una reciente publicación (3), se encuentran con frecuencia colonias correspondientes a una especie de Aspergillus, además de otras de tipo bacteriano.

Por nuestra presente comunicación, hemos visto en la última parte que las formas celulares del parásito pueden confundirse con las células de la conjuntiva, más su protoplasma, de tinción más intensa y homogénea, las diferencia. Estas células, en un momento de su evolución, presentan la fase que parecen una envoltura celular repleta de corpúsculos individualizados bien discretos, que en fase ulterior quedan libres y toman el aspecto de los llamados por nosotros Corpúsculos de Rá y por otros autores cuerpos rickettsoides o Clamidozoon trachomatis.

Estas células del parásito en sus fases no bacterianas si son sembradas tienden a dar colonias del tipo (a'') y (b'), que sólo se consiguen en la primera siembra. La mayoría de las veces estas colonias no pueden ser resembradas y parecen estériles, o bien dan nacimiento a colonias del tipo (a), (a') y (b) o de Aspergillus. Su microscopia suele corresponder a las figs. 25, 26 y 27.

¿Cuál es la interpretación que damos a lo expuesto en estos cinco apartados?

Establecemos que el agente etiológico del tracoma es un Aspergillus.

Este moho en la lesión histo-patológica del tracoma se presenta pleomórfico —plenitud de formas— o sea como células de un micelio, de un peritecio y bac-

---

mes los eslabones—, sino que la imagen corresponde a un filamento continuo.»

«d) Por último hemos de tratar de una forma de la cual hasta el presente nada hemos dicho, lo que es debido a que su presencia se deduce de las anteriores, ya que es imposible establecer una clara diferencia entre esta forma y ciertas células reaccionales que se ven en el campo. Se trata de unas formas que tienen un parecido extremo con los linfocitos de protoplasma mínimo. Se caracterizan por una masa a modo de núcleo de linfocito con un halo muy delgado con tendencia a ser refringente; este carácter y el que tal núcleo (!) tenga una forma redonda u oval de bordes muy netamente delimitados, y que su coloración sea muy homogénea e intensa, hace que si bien se parece enormemente a un linfocito, tenga algo que permita diferenciarlo de ellos. Por otra parte, si bien su tamaño en muchos casos es como el de aquéllos, no cabe duda que también abundan las formas de tamaño más pequeño, llegando algunas a tener tan sólo de tres a cuatro micras de diámetro. No en vano se ha llamado a los linfocitos: células esporas. Un poco más pequeñas y refringentes, y se confunden ya con las formas de tipo b). A estas formas les llamamos: levaduriformes pseudo-celulares. (Fig. 13.)

terianas. Estas últimas son escasas en la microscopía del frotis o corte histológico de la lesión; en cambio sí están presentes y con una alta frecuencia en los cultivos de la misma procedencia. Hay otra forma que siempre se encuentra en las lesiones de la enfermedad, que son las correspondientes al tipo Rickettsia y que pertenecen también al pleomorfismo del moho, y que no se obtienen en los cultivos; al menos no son capaces de resiembra.

Todo lo cual nos induce a interpretar los hechos experimentales citados diciendo que el agente etiológico del tracoma es una, alguna, o cada una de las fases de un Aspergillus pleomórfico que hemos clasificado como el Aspergillus amstelodami.

RESUMEN

Estudiamos las células de cortes histo-patológicos de conjuntivas tracomatosas.

En un caso especialmente se pueden ver, sin lugar a duda, células que pertenecen a un hongo y seguramente a un peritecio. Se encuentran formando un seudo parénquima que, por tanto, tiene la apariencia de un tejido de células dehiscentes.

En los otros casos hay células del tipo anterior, pero aisladas o en pequeños grupos.

Las llamadas glándulas de Iwanof de la conjuntiva tracomatosa las interpretamos como peritecios del moho en cuestión.

Por la presente publicación y otras anteriores establecemos que el agente etiológico del tracoma es el Aspergillus amstelodami con un gran pleomorfismo.

Dentro de la plenitud de formas de este moho se encontrarían células de tipo eumiceto, miceto imperfecto, bacteria y rickettsia (Clamydozoon).

SUMMARY

We studied the cells of histopathological sections of the trachoma conjunctivæ.

In one case especially the cells observed undoubtedly belong to a fungus, most probably to perithecium. They form a pseudoparenchyma and therefore resemble dehiscent cell tissues.

In the other case we found cells of the previous type but isolated or in small groups.

We consider the so-called Ivanoff glands of trachoma conjuntiva to be perithecia of the studied mold.

In this and former papers we established that the etiological agent of trachoma is Aspergillus amstelodami with great pleomorphism.

Among the multiple forms of this mold can be found cells of eumycetic type, imperfect mycetum, bacteria and rickettsia. (Clamydozoon).

BIBLIOGRAFIA

(1) **SOCIAS, A.** 1941. De la presencia intranuclear de las inclusiones (corpúsculos de Rá) en el tracoma. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.,** XV, 5.

(2) ——— 1944. Formas pseudo celulares del agente etiológico del tracoma. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.,** XVIII, 7.

(3) ——— 1950. Hipótesis de una etiología micósica del tracoma. Motivos para su establecimiento. **Rev. de Sanidad e Hig. Públ.,** XXIV.

(4) ——— 1950 Bacterias y Mohos procedentes de cultivos de folículos tracomatosos. **Microb. Espan.,** III: 99-116.

INSTITUTO ANTITUBERCULOSO DE BARCELONA

OPACIMETRO DE REGISTRO FOTOGRAFICO CONTINUO (*)

C. Xalabarder.

Muchas reacciones químicas o fenómenos biológicos manifestados por grados de turbidez variables en función del tiempo, resulta interesante poderlos registrar automáticamente de manera continuada. Una de sus aplicaciones importantes es la obtención de las curvas de crecimiento bacteriano para observar sus modalidades de alteración bajo la acción de los antibióticos, añadidos en cada una de las fases principales de dicho crecimiento. El misterio que todavía envuelve al mecanismo de acción de tales drogas, podrá irse desvaneciendo con el auxilio de nuevas técnicas que nos permitan estudiar bajo qué condiciones se unen a los gérmenes y cómo responden estos últimos a la presencia de los antibióticos. El registro fotográfico de las curvas de crecimiento bacteriano puede ser de gran utilidad para resolver diversos aspectos del problema.

En realidad, se han llevado ya a cabo varias realizaciones prácticas para registrar automáticamente los grados de turbidez correspondientes al aumento progresivo del número de gérmenes en fase de desarrollo. Todos esos intentos son muy valiosos, pero presentan también serios inconvenientes. El dispositivo de Bonet-Maury y Walen registra simultáneamente seis curvas distintas, trabajando por puntos a intervalos regulares; pero es un aparato extremadamente complicado y forzosamente caro. El intento de simplificación ideado por Giménez Vargas y Monche no permite apreciar pequeñas variaciones en la densidad óptica, debido a que la célula fotoeléctrica autónoma utilizada por estos investigadores resulta ser muy poco sensible y no hay posibilidad de ampliar la debilísima corriente que origina.

Con el fin de obviar dichos inconvenientes he ideado y construído un dispositivo simple y eficiente, que puede ser montado con facilidad en cualquier laboratorio medianamente equipado.

Como sea que la célula fotoeléctrica autónoma no se presta bien para apreciar, debidamente ampliadas, las pequeñísimas variaciones de intensidad lumínica, he recurrido a la célula fotoemisora, cuya corriente de salida puede ser multiplicada tantas veces como convenga. En el esquema adjunto se aprecian,

---

(*) Trabajo leído en la Sección de Barcelona, de la S. M. E.

mejor que con una larga explicación, las características técnicas de mi dispositivo (Fig. 1).

El galvanómetro registrador, de espejo móvil, abarca un ángulo de 60 grados, bajo una intensidad de 25 micro-amperios; pero, mediante el shunt variable conectado al mismo, es posible reducir su sensibilidad de acuerdo con las necesidades del trabajo a realizar. Siendo conveniente saber la situación de la curva en un momento determinado (y el trazado fotográfico solamente podemos verlo

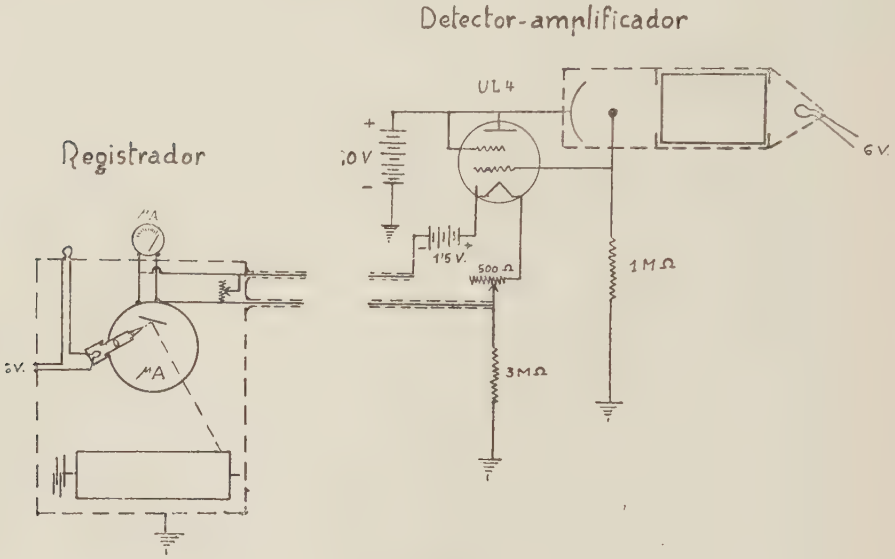


Fig. 1.

después del revelado), he dispuesto un segundo galvanómetro indicador en el exterior de la caja que contiene el galvanómetro de registro. Ambos son de idéntica sensibilidad y están conectados en paralelo. Así puede seguirse «de visu» la situación del trazado fotográfico en cualquier momento y podemos alterar las condiciones del cultivo en la fase de crecimiento que más convenga a nuestros fines.

Una lámpara-piloto, situada también en el exterior del aparato, está conectada en serie con la lámpara proyectora del galvanómetro trazador. Tiene por objeto controlar el perfecto funcionamiento de todo el circuito de proyección.

La longitud del papel fotográfico se ha escogido de 24 centímetros, y el tambor que lo sostiene, accionado por un simple mecanismo de relojería, da una vuelta completa cada veinticuatro horas. De esta forma, cada un centímetro lineal en el eje de abscisas equivale exactamente a una hora de trazado. Esta velocidad es la más adecuada para el registro del crecimiento bacteriano, pero es fácil variarla de acuerdo con las conveniencias del momento.

La separación entre el grupo-registro y el grupo detector-amplificador puede ser bastante larga, lo cual permite introducir este último en el termostato para todas aquellas observaciones que requieran temperatura constante o para el cultivo de gérmenes. En cambio, la distancia entre la célula fotoeléctrica y la válvula amplificadora debe ser lo más corta posible, siendo conveniente montarlas en monobloque. En nuestro laboratorio la longitud de los cables conductores es de tres metros, y fué necesario blindarlos porque las curvas obtenidas antes de tomar esta precaución resultaron perturbadas por parásitos radio-eléctricos. Con el blindaje de los cables y la protección del galvanómetro principal mediante una cámara de Faraday, las curvas fotográficas resultan de una precisión y finura extraordinarias.

Uno de los problemas que se presentan al registrar fenómenos que puedan resultar falseados por el hecho de la sedimentación de partículas, cosa que ocurre constantemente al obtener curvas de multiplicación bacteriana, se ha procurado evitar mediante la agitación mecánica continua (Bonet-Maury y Waler). Sin embargo, este proceder introduce a su vez otra causa de error no menos fastidiosa, puesto que algunos gérmenes no resisten sin perturbación dicha agitación permanente. He solventado esta dificultad haciendo que la cubeta del líquido-problema sea de la misma altura que la placa sensible de la célula foto-eléctrica. De esta manera, cuando la sedimentación bacteriana es notable, la célula recibe menos luz a través de las capas inferiores; pero también recibe más a través de las capas superiores, compensándose mutuamente esas diferencias, que resultan inapreciables en el circuito de salida del amplificador.

A pesar de utilizar una sola válvula miniatura, la sensibilidad de este dispositivo es tan elevada que el foco luminoso que actúa sobre la célula foto-eléctrica debe estar alimentado con pilas o baterías, pues su conexión a la red alterna produce oscilaciones lumínicas, absolutamente inapreciables a simple vista, pero que se traducen en grandes alteraciones de la curva fotográfica.

Aunque el funcionamiento del aparato haya sido de veinticuatro horas sin interrupción, y después de varios meses de trabajo casi diario, no he observado distorsiones en las gráficas que puedan ser imputadas al fenómeno de fatiga de la célula fotoeléctrica.

Los siguientes trazados son un buen ejemplo de la precisión con que pueden ser estudiados ciertos problemas bacteriológicos de interés actual, confirmándolo rectificando las deducciones derivadas de otras técnicas, que, por ser indirectas, están sujetas a factores de apreciación personal más o menos discutibles.

Agosto 1950.

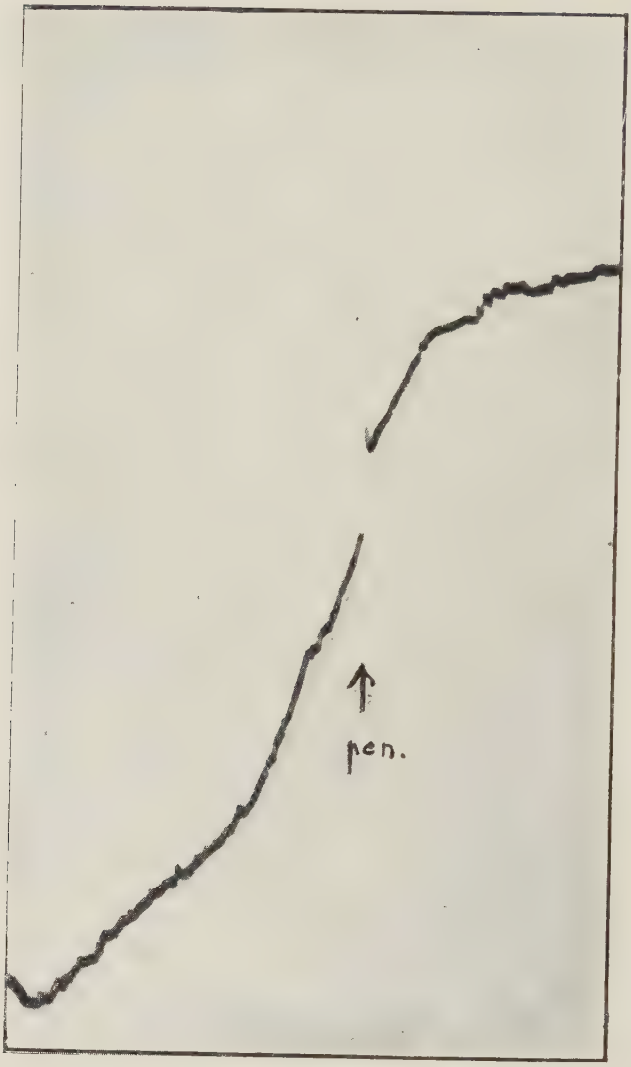


Fig. 2.

Cultivo de S.aureus penicilino-resistente. La adición de penicilina (50 u. por c.c.) no modifica la curva normal de crecimiento, la cual se muestra claramente en sus tres fases.

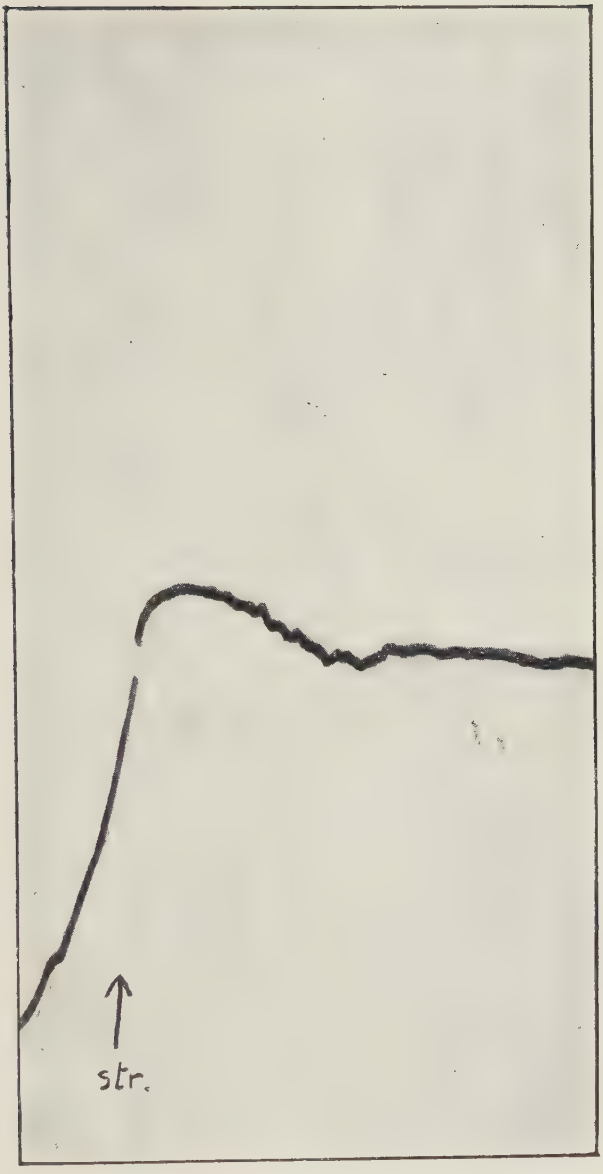


Fig. 3.

Cultivo de E.coli en caldo-lactosa. Fragmento de curva correspondiente a la fase logarítmica. Al añadir estreptomicina continúa todavía el desarrollo bacteriano durante una hora. En el transcurso de otras dos horas se produce una lisis parcial, deteniéndose después totalmente la multiplicación celular.

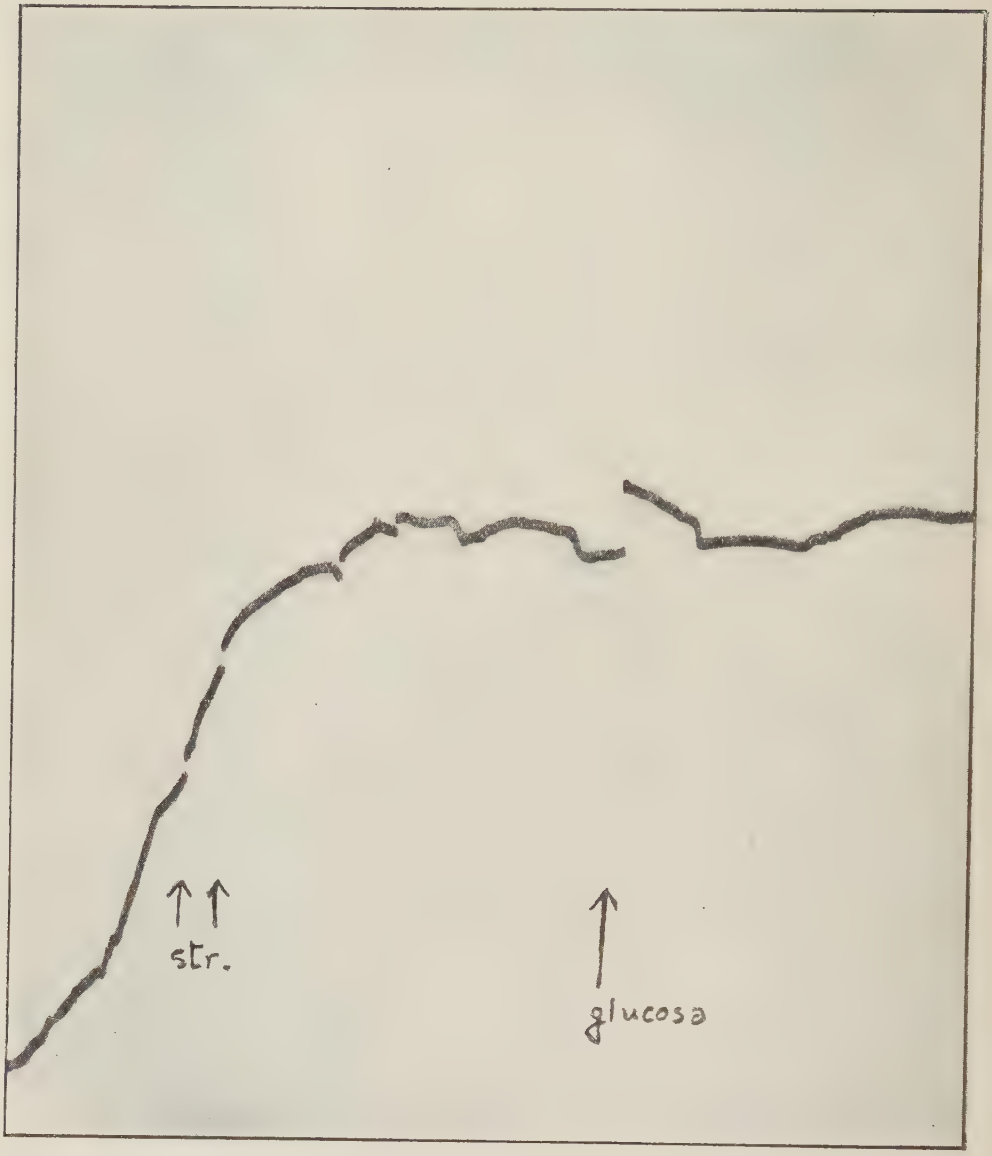


Fig. 4.

Cultivo de E.coli en caldo ordinario. La adición de estreptomicina en plena fase logarítmica no detiene el desarrollo microbiano hasta pasadas cuatro horas. Añadiendo después glucosa al medio de cultivo no se consigue neutralizar la acción bacteriostática.

Fig. 5.

E. coli en caldo-lactosa. Al iniciarse la fase logarítmica se introdujo un detergente que hizo descender 10 dynas-centímetro la tension superficial del medio de cultivo. El desarrollo bacteriano no experimenta ninguna modificación.

ESTUDIOS SOBRE INCLUSIONES INTRACELULARES, PRODUCIDAS POR VIRUS, EN LAS PLANTAS

Miguel Rubio Huertos.

INTRODUCCION

Siempre ha interesado y se ha escrito bastante sobre la formación, propiedades y etiología de las inclusiones intracelulares producidas por virus en las células de los organismos atacados por ellos, tanto en el reino animal como en el vegetal.

Nosotros hemos aprovechado la suerte de haber encontrado algunas que difieren en varios aspectos de las ya conocidas y hemos creído de interés intentar esclarecer algunos puntos oscuros existentes en su proceso de formación y sus causas, intento que constituye el tema de este trabajo.

INCLUSIONES INTRACELULARES

Dos clases de cambios internos se observan frecuentemente en las plantas que sufren enfermedades producidas por virus. La primera consiste en modificaciones y destrucción del tejido normal o del contenido de la célula y la segunda en la producción de peculiares inclusiones intracelulares.

En la primera clase de cambios internos vemos que se corresponden, principalmente a las características de los síntomas externos, y éstos, con ser muy típicos de las infecciones producidas por virus, son a veces semejantes a los causados por enfermedades de carencia, bacterias y hongos, como son: la aparición de áreas cloróticas, necrosis, etc. De estos síntomas externos, en las virosis, las áreas cloróticas de las hojas son más delgadas que las zonas verdes, correspondiendo a zonas hipotróficas, en las que encontramos una reducción en la longitud de las células de la empalizada, siendo también más pequeños los espacios intercelulares. En el interior de las células, donde mayores alteraciones se observan es en los cloroplastos; éstos son más pequeños, vacuolados y a veces adoptan formas anormales. Se encuentran en menor número que en las células normales y algunas veces su destrucción es completa. En general, todas estas anormalidades tienden a una reducción de los tejidos asimilatorios, aunque se dé la paradoja de que, en algunas virosis (Leaf-Roll de la patata y Yellows de la remolacha), a pesar de la reducción de tamaño y número de

los cloroplastos, hay una acumulación de almidón en las células de las hojas, que producen una rigidez en ellas, haciéndose frágiles y saltando al ser apretadas.

También son frecuente resultado de la infección la necrosis, como dije antes, y la muerte de las células.

La segunda y más característica clase de cambios internos es, como decimos, la producción de inclusiones intracelulares específicas.

Aunque en las plantas normales se han visto inclusiones intracelulares de diversa naturaleza, como, por ejemplo, cristales de sales minerales, los «slime bodies» en el floema de algunas plantas, inclusiones proteínicas en cromatóforos, en vacuolas de vasos lactíferos de Musa Chinensis (Molisch) y en las células de la epidermis de Epiphyllum de Opuntia Monacantha etc., parece que estas inclusiones son peculiares de determinadas familias y especies de plantas y se encuentran habitualmente sólo en ellas, y hasta, como se ha visto, en determinados tejidos.

Las inclusiones inducidas por virus son específicas del virus, no de la especie de la planta atacada, pues un mismo virus, por ejemplo, el del Mosaico del Tabaco, produce el mismo tipo de inclusiones en plantas de diferentes familias, géneros y especies, y, además, una misma especie de planta da diferentes tipos de inclusiones, según esté infectada con un virus u otro; por ejemplo, la Brassica Chinensis, según esté inoculada con el virus del amarillo del nabo, con el Anillo Negro de la col o con el Mosaico de la coliflor, da tres diferentes tipos de inclusiones, con propiedades también diferentes.

Sabida es también la gran importancia que han tenido y que tienen y lo discutidas que han sido en las virosis animales las inclusiones intracelulares. Así, ya en 1869, Rivolta observó las primeras en Fowl-pox y Guarnieri en viruela los llamados hoy cuerpos de Guarnieri, ya notados por Wergert en 1847 y por Renant en 1881, describiendo más tarde, en 1903, Negri, estructuras anormales en las células del cerebro de animales atacados de rabia, pronto reconocidas como de significativo valor diagnóstico de esta enfermedad.

Aunque las inclusiones de plantas parecen ser motivadas específicamente por infecciones de virus, apareciendo en algunas con la suficiente frecuencia para ser de considerable valor diagnóstico, no han sido encontradas en todas las virosis; por ejemplo, hay dos virus, el del Mosaico del Tabaco y el Cucumber virus 3 y 4 que son muy parecidos en la producción de síntomas externos en las plantas a las que atacan y además, están relacionadas serológicamente y que, sin embargo, el primero produce inclusiones en casi todas las plantas con él infectadas y el segundo no las produce en ninguna. Como digo antes, su producción depende más del virus infectivo que de la planta infectada. Además, generalmente, aparecen las inclusiones en las células de la planta sólo en determinados momentos de la infección y vuelven a desaparecer al cabo de cierto tiempo, que varía con la naturaleza del virus.

En 1903, Iwanowski fué el primero que hizo un estudio histológico de una planta infectada con virus, describiendo dos clases de inclusiones en las células de plantas infectadas por el Mosaico del Tabaco: unas, cuerpos ameboides, constituidos por material amorfo, y otras, cristalinas, en forma de placas y agujas. Siete años más tarde, Lyon describió pequeños cuerpos de forma irregular en las células de caña de azúcar infectada con el virus Fiji; en 1922, Kunkel (39) encontró inclusiones similares asociadas con el Mosaico de Hippeastrum equestre Herb. Smith en 1924, estudiando el Mosaico de la patata, vió, también inclusiones de tipo ameboide y, desde entonces, se han estudiado y encontrado en gran número de plantas infectadas por distintos virus, aunque se haya visto que hasta ahora hay una mayoría de virosis en las que no se han encontrado dichas inclusiones amorfas ni del tipo cristalino.

Estas observaciones han sido repetidamente confirmadas, pero el interés se ha centrado, principalmente, sobre las inclusiones de tipo amorfo y yo sólo me he de referir a ellas en este trabajo).

Morfología: Goldstein (1924 1926) describe las inclusiones cristalinas y amorfas con gran detalle y resume los diferentes puntos de vista sobre la naturaleza de las de tipo amorfo, dándoles el nombre de cuerpos X. Estos cuerpos X parecen compactas masas de citoplasma; típicamente son ovales y redondas, a veces con un contorno irregular, ya que al ser llevadas por la corriente citoplásmica cambian fácilmente de forma. Su tamaño varía considerablemente y puede variar desde 30 micras a 5 micras, son granulares y contienen una ó más vacuolas. Goldstein dice haber visto en ellas membrana externa, pero Henderson-Smith y Sheffield (51) (1934) no lo han podido confirmar. En nuestras observaciones, como se verá más adelante, parece que hemos podido confirmar la presencia de membrana externa en los cuerpos X producidos por el Mosaico de la coliflor; no así en los otros estudiados. También Sheffield, aunque fué incapaz de ver indicios de membrana, ha obtenido resultados que sugieren su existencia, extrayendo por medio de micromanipulador, cuerpos X intactos de las células infectadas y sometiéndolos a diferentes presiones osmóticas, comportándose dichas inclusiones como si en realidad tuvieran esta membrana. También cuando son picados con una microaguja, se deshacen en partículas, pereciendo, como si al ser desgarrada esta membrana diese lugar al desmoronamiento y a la destrucción de la inclusión.

Diferentes tipos de cuerpos X: Los cuerpos X de diferentes razas del virus del Mosaico del Tabaco varían ligeramente en su apariencia; así, los del Mosaico Aucuba en Solanum nodiflorum son más definidos que aquellos del Mosaico del Tabaco y su carácter granular mucho más pronunciado, siendo casi iguales de aspecto a aquellos del Hyoscyamus virus 3. Los del Mosaico común del tabaco son, por su forma, muy similares a algunas clases de amebas; de ahí que, al principio, algunos observadores creyeron que las inclusiones eran

el agente etiológico de la enfermedad. Los formados por otros virus tampoco se separan mucho del aspecto general de estos dos tipos descritos; los que hemos visto en el Anillo Negro de la col son, en una de sus principales fases, casi iguales a los producidos por el Mosaico aucuba y H. M.; los de los virus Y y X de la patata son más parecidos a los producidos por el Mosaico del Tabaco y los del Mosaico de la coliflor difieren de todos ellos por su aspecto muy refringente, casi cristalino, compacto, y por no ser vacuolados nunca.

Propiedades: En sus reacciones con diversos disolventes, en su comportamiento ante las variaciones de pH y de presión osmótica y por su afinidad para los colorantes histológicos, difieren, también, según sean producto de un virus u otro; pero casi todos tienen las siguientes características generales: resisten bien los cambios de pH, no son afectados, en general, por los ácidos débiles y son preservados perfectamente por los métodos corrientes de fijación (Carnoy, formol 12 por 100 salino, Champy, Zenker, etc.) y dan la reacción de proteínas con el reactivo de Millon. Se diferencian claramente de los núcleos haciendo la tinción de Feulgen; que no afecta a las inclusiones, tiñendo de un rojo púrpura los núcleos y empleando un colorante ácido, como contraste, que teñirá fuertemente los cuerpos X. De todas formas, sus reacciones de tinción son peculiares, pues son al mismo tiempo acidófilos y basófilos. Recurriendo a métodos especiales de tinción se puede poner de manifiesto en algunos cuerpos X la presencia de mitocondrias, que a veces parecen estar como formando una red alrededor de ellos como si hubieran sido recogidos por el cuerpo X en sus movimientos dentro de la célula en la corriente protoplásmica (Bawden y Sheffield). Más adelante veremos la interpretación que nosotros creemos más apropiada.

También en los cuerpos X se pueden apreciar glóbulos de grasa, que se ponen de manifiesto con los colorantes específicos apropiados.

Formación: En 1931, Sheffield, observando Solanum nodiflorum infectado con virus del Mosaico Aucuba, pudo determinar la formación de los cuerpos X, viendo que, pocos días después de la inoculación, la corriente citoplásmica se acelera y se hace más visible, y que en la época en que los síntomas externos (mosaico, clareamiento de venas) comienzan a mostrarse, en el citoplasma aparecen pequeñas y numerosas partículas circulando en la corriente citoplásmica. Cuando estas partículas se encuentran, se funden unas con otras, formándose por estas continuas fusiones grandes masas de material; estas masas son arrastradas por el citoplasma circulante, pero, ahora, debido probablemente a su mayor tamaño, se mueven más lentamente y se funden unas con otras al entrar en contacto, hasta que, últimamente, casi todo este material llega a ser contenido en una gran masa. En algunos casos esta masa queda en forma difusa, pero, mucho más frecuentemente, se hace compacta y redondeada y puede llegar a vacuolarse.

Esto ocurre en el caso de cuerpos X de tipo granular, como son los produ-

cidos por el Mosaico Aucuba. En el caso de los cuerpos X del Mosaico del tabaco que son de tipo ameboide no pudo Sheffield, a pesar de sus prolongadas observaciones, determinar su origen. Efectivamente, en las observaciones hechas por nosotros, tampoco hemos podido ver claramente dicha formación, pues en las plantas infectadas, al lado de células completamente normales, aparecen otras con los cuerpos X totalmente formados; no se observa estado intermedio, a pesar de vigilar durante días y meses, a partir de la infección, el paso que debe haber entre la célula normal y la que contiene inclusiones; únicamente, coincidiendo con las observaciones de Bald (2), hemos notado la deformación y vacuolización de los cloroplastos hasta adquirir formas muy parecidas a los cuerpos X, pero sin tener la evidencia de su causalidad, como en el caso que exponemos más adelante, de la formación de cuerpos X en plantas infectadas con el virus del Amarillo del Nabo, en los que se ve unirse claramente los cloroplastos para formar los cuerpos X.

Composición: Sheffield, en 1939, demostró de la siguiente manera la infectividad de los cuerpos X y que éstos deben estar constituidos en su mayor parte, por virus: extrajo las inclusiones de las células por medio de micromanipulador, las lavó repetidamente en soluciones tampón y las suspendió en agua destilada antes de inocularlas a Nicotiana glutinosa. Calculó el peso de un solo cuerpo X y, sabiendo los que había puesto, hizo soluciones conteniendo un conocido peso de virus purificado y comparó su infectividad con la de las soluciones de cuerpos X. Nuestras observaciones con el microscopio electrónico en la mayoría de las inclusiones estudiadas coinciden con los resultados de Sheffield en que están formados en su mayor parte por partículas de virus, pero en algún caso (Mosaico de la coliflor) no hemos podido ver que estén formados así.

De todos modos siempre dan las reacciones de las proteínas

Virus que causan la formación de inclusiones intracelulares.

Dahlia mosaic.
Dwarf (Stunt) of rice.
Henbane mosaic.
Hippeastrum mosaic.
Iris stripe.
Maize mosaic.
Oat mosaic.
Onion yellow dwarf.
Pea 2.
Phaseolus 2
Potato X (many strains).
Potato Y.
Sandal-Spike.
Sugar beet curly top.
Sugar-cane chlorotic streak.
Sugar-cane Fiji disease.
Sugar-cane mosaic.
Tobacco mosaic (many strains).
Tobacco ringspot.
Tobacco etch.
Tomato bushy stunt.
Wheat mosaic.

Tabla tomada de «Bawden Plant Viruses and Virus Diseases» 1950. Chronica Botanica Waltham Mass. U. S. A. 3.ª ed. 1950.

A los virus que producen inclusiones hay que añadir ahora los tres estudiados por nosotros y que son:

Anillo Negro de la col (Cabbage Black ring).
Mosaico de la coliflor (Cauliflower Mosaic).
Mosaico amarillo del Nabo (Turnip Yellow).

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y METODOS

Virus.—Hemos empledo los siguientes:

a) Virus de crucíferas.
   Anillo Negro de la col. (Brassica virus 1, Cabbage Blackring.)
   Mosaico de la coliflor. (Brassica virus 3, Cauliflower Mosaic.)
   Amarillo del Nabo. (Turnip Yellow.)

b) Otros virus:
   Virus del Hyosciamus. (Hyoscyamus virus 3, Hembané Mosaic.)
   Mosaico Aucuba. (Tomato Aucuba Mosaic virus, Nicotiana virus 1 C, Tobacco virus 6, Yellow Tobacco Mosaic.)
   Grabado intenso del tabaco. (Severe Etch virus.)

Plantas.—En el trabajo realizado con virus de crucíferas hemos empleado, principalmente, Brassica Chinensis y Br. Napus, por sus características de reaccionar más fácilmente y más pronto a las infecciones y por la calidad de los síntoms que presentan; también hemos empleado diversas variedades de Brassica Oleracea, como son las capitata, botritys y gemminífera.

En los otros virus hemos empleado plantas de tomate, variedad Klondine Red, en el caso del Aucuba y Nicotiana tabacum variedad withe Burley en el resto.

Técnicas histológicas.— Hemos hecho secciones del material, para su observación, con microtomo de congelación, en algunos casos y, en otros, después de fijado e incluído el material, con microtomo de parafina.

Para las observaciones diarias de formación de inclusiones, etc., hemos empleado, principalmente, tiras de epidermis de las hojas, arrancadas con unas pinzas finas.

Por tratarse de inclusiones hasta ahora no descritas, en lo que respecta a las virosis de las crucíferas, hemos creído conveniente probar con ellas la mayoría de los colorantes y tinciones usualmente empleados para histología de virosis, como son las siguientes (48).

El reactivo nuclear de Feulgen combinado con diferentes colorantes de contraste, como son el verde luz y el azul de metileno.

Fuchina ácida y básica.

Floxina, a veces, combinada con el verde de metilo para ver mitocondrias (Sardiña y Rubio, 1949) (49).

Hematoxilina de Delafield y de Heindenheim.

Con estas coloraciones se ha encontrado que, en general, las inclusiones de estos virus de las crucíferas se tiñen igual que los cuerpos X producidos por el Mosaico Aucuba y otros virus ya descritos, con excepción de los del Mosaico de la coliflor, que tienen más avidez por la Floxina, aun cuando los demás también se tiñen muy bien con ella. Tanto es así, que después de comprobadas las reacciones con los demás colorantes, hemos empleado sistemáticamente, como método que mejor resultado nos ha dado, la tinción con Floxina al 0,5 por 100, sin previa fijación, durante unos segundos; pues, al no necesitar fijar previamente se evita el efecto perjudicial de los fijadores sobre los elementos celulares y, a veces, permite hacer observaciones en vivo, pero, sobre todo, porque encontramos que la Floxina, en estas condiciones, permite diferenciar perfectamente de las inclusiones a los plastidios y cloroplastos, ya que tiñe fuertemente aquéllas y deja a éstos incoloros o de un color verdoso amarillento.

Como fijadores hemos empleado los de Carnoy, Zenker y formol salino al 12 por 100.

Como ya hemos dicho antes, los mejores resultados obtenidos han sido empleando Floxina al 0,5 por 100, en solución salina, sin previa fijación del material, pero, naturalmente, esto sólo sirve para las observaciones rápidas, periódicas; cuando se trató de montar preparaciones, empleamos antes aquellos fijadores.

Para la observación en el microscopio electrónico de las inclusiones, las hemos extraído y aislado de las células, de la siguiente manera:

En un porta bien limpio, y sobre una gota de agua destilada, se observan con el aumento medio de un microscopio ordinario, tiras de epidermis de hoja para localizar en ellas las inclusiones. Una vez localizadas éstas, se utiliza el pequeño aumento que permite, generalmente, distinguirlas bien, al mismo tiempo que manipular en la preparación; se sujeta la tira de epidermis con unas pinzas o una aguja y, con otra aguja fina, se raspa sobre las células que contienen las inclusiones, consiguiendo, de esta manera, hacer salir a la gota de agua los cuerpos X, acompañados, naturalmente, por algunos núcleos, plastidios y algún trozo de membrana celular; se toma entonces con una micropipeta líquido en el que han quedado todos estos elementos, y se traslada a un porta bien limpio, en donde se extiende y, bajo el microscopio se puede diferenciar y seleccionar la inclusión o inclusiones que se deseen, tomándolas con una micropipeta. A veces, hay que repetir la operación para conseguir se-

parar de los otros elementos las inclusiones y se puede hacer diluyendo con más agua destilada, de modo que todos los elementos queden bastante separados entre sí, o bien, si la naturaleza de las inclusiones lo permiten (Mosaico de la coliflor y virus de Hyosciamus, etc.), dejar secar y aislarlas, arrastrándolas por medio de muy finas agujas separándolas de los demás elementos sobre el porta y allí poner una gota de agua sobre ellas y tomarlas ya aisladas con las micropipetas.

Una vez aisladas, se depositan, soplando suavemente por la micropipeta sobre la fina película de colodion o plástico que recubre la rejilla-porta del microscopio electrónico.

Cuando se trata de ver una sola inclusión, si se coloca sin mirar sobre la rejilla-porta, lo más probable es que se pierda, ya sea por quedar en uno de las espacios ocupados por los finos alambres de la rejilla o bien si queda en un campo visible, pero que no sabemos cuál es de antemano, habrá que mirar todos los campos antes de encontrarla, lo que es muy engorroso y largo. Así, para saber dónde va, generalmente se procura ponerla cerca del centro de la rejilla, y para ello se ha hecho lo siguiente: hemos aislado el cuerpo X sobre un porta, en el que habíamos depositado previamente una fina película de colodion y dejado secar sobre el mismo. Después trazamos con la punta de una aguja (bajo el pequeño aumento del microscopio y sin perder de vista la inclusión) un cuadro, como de un poco menos de un centímetro de lado alrededor del cuerpo X. Poniendo el porta sobre agua destilada, desprendiéndose el cuadro de colodion con la inclusión que queda flotando en la superficie del agua y después, siempre bajo el pequeño aumento del microscopio corriente, observando al mismo tiempo la rejilla-porta del microscopio electrónico que habremos puesto previamente en un soporte dentro del agua, la inclusión y el cuadro de colodion flotando encima, se puede, por medio de una succión del agua, hacer bajar el nivel de la misma, y con él, el cuadro de colodion conteniendo el cuerpo X, que quedará depositado sobre la rejilla, en la posición deseada, ya que se habrá dirigido su colocación con dos agujas, de manera que quede el cuerpo X en una de las aberturas más próximas al centro de la rejilla.

Como a veces las inclusiones enteras han sido demasiado grandes y gruesas para ser observadas con fruto en el microscopio electrónico, las hemos tenido que deshacer o dividir en trozos, antes de su colocación sobre la rejilla-porta.

Hemos empleado el sombreado con paladio en la preparación de todos los espécimens, antes de ser mirados y fotografiados en el microscopio electrónico.

El microscopio electrónico empleado ha sido un R. C. A. tipo B.

Las fotografías de nuestras preparaciones las obtuvo Mr. H. L. Nixon, a quien me complace expresarle mi agradecimiento.

INCLUSIONES ENCONTRADAS EN TRES VIRUS QUE ATACAN A LAS CRUCIFERAS

Hasta ahora, aunque se ha trabajado mucho sobre estos tres virus, ha sido más en su aspecto de sintomatología externa, transmisión, daños causados a la agricultura y prevención de ellos, estudio de diferentes tipos y razas de cada virus y, en algunos, como el «turnip yellow», su cristalización, propiedades físico-químicas, serología, etc., pero no se ha hecho en ninguno de ellos nada sobre su histopatología, laguna que con este trabajo intentamos llenar en parte.

Antes de pasar a describir las inclusiones, daremos en cada virus un breve resumen de las propiedades del mismo.

Anillo negro de la col.

Sinónimos: Brassica virus 1 (Smith), Wallflower Mosaic virus (Smith), Cabbage black ring, Cabbage ringspot virus y probablemente el Cabbage Blackspot virus (Tompkins, 1935).

Propiedades: El virus permanece infectante de cuarenta y ocho a setenta y dos horas en la savia extraída; es inactivado por exposición durante diez minutos a una temperatura de 60° C.; su punto de dilución extrema es de 1 en 700, aproximadamente.

Transmisión: Es transmisible por la savia y por insectos; de éstos, los principales son los áfidos Myzus Persicae Sulz y Brevicoryne Brassicae.

Principales plantas susceptibles: Gran cantidad de crucíferas, entre ellas diversas variedades de Brassica Oleracea, Mattiola Incana var, Annua, Cheirantus Cheri, Arabis Sp, Hesperis Matronalis, etc. También produce un mosaico sistemático en Nicotiana Glutinosa y N. Langsdorffii; en N. Tabacum var. White Burley produce lesiones necróticas en las hojas inoculadas sin que se extienda la infección.

Histopatología: inclusiones: Estas inclusiones son las de tipo amorfo, llamadas cuerpos X por Goldstein (1924).

Formación y descripción: Dos o tres semanas después de inoculadas las plantas (el tiempo depende de varios factores tales como temperatura, luz, humedad, condiciones de la planta, etc.) y coincidiendo con la aparición y extensión de los síntomas externos por toda la planta (Mosaico y moteado) se empiezan a ver, dentro de las células de la epidermis, pequeñas partículas refringentes que tienden a juntarse para formar una estructura reticular que se puede diferenciar perfectamente de los otros componentes de la célula, no sólo por su morfología, sino, porque, al hacer una tinción con floxina al 0,5 por 100, durante unos segundos, sin fijación previa, se tiñen dichas partículas de un rojo

púrpura vivo, quedando los otros elementos celulares sin teñir, aunque a veces el núcleo y nucleolo se tiñen también.

En una semana más tarde aproximadamente, las partículas se han ido fundiendo unas con otras para formar una masa compacta, granular, que puede llegar a ser vacuolada. En esta fase, las inclusiones se parecen a aquellas inducidas por el Hyosciamus virus y el Severe Etch en el tabaco (figs. 1 y 2).

En una fase más avanzada, estos cuerpos X granulares se hacen fibrosos y podemos encontrar dos tipos principales de ellos: unos, como una masa compacta, espesa, redondeada, bastante refringente, con las fibras mezcladas en todas las direcciones y, algunas veces, conteniendo pequeñas placas y agujas, las que por sus limpias aristas, mayor refringencia y aspecto general, sugieren la posibilidad de que sean material cristalino.

El otro tipo está formado por fibras orientadas en una sola dirección y pareciendo como si cada fibra fuera independiente de las otras, con un típico aspecto de haz. Este tipo de inclusión es mucho menos frecuente que el anterior.

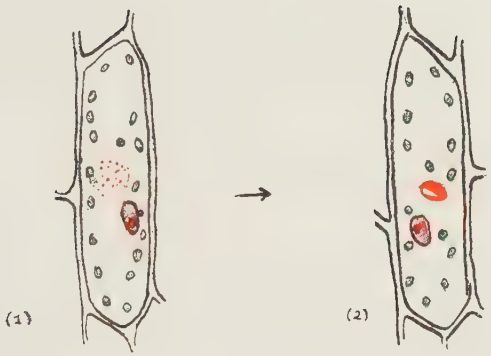
Generalmente, estas inclusiones se encuentran al lado del núcleo, asociadas con él o rodeándole; otras veces se hallan contra la membrana de la célula. El número de cuerpos X que se encuentran en cada célula habitualmente, es de uno, pero a veces hemos visto hasta tres y cuatro.

Propiedades: Dan la reacción de proteínas con el reactivo de Millon y se tiñen con los colorantes usuales para inclusiones.

Cuando estos cuerpos X (ambos tipos) se extraen de la célula y se colocan sobre agua destilada (según la técnica explicada en el capítulo de material y métodos) se desintegran, en algunos minutos, en el material fibroso de que están compuestos y pequeñas placas de aspecto cristalino.

Nosotros hemos tomado alguna de estas fibrillas con una micropipeta y colocado sobre la rejilla-porta para su examen en el microscopio electrónico; se dejó secar y se hizo un sombreado con paladio.

Resultado de la observación: Hemos podido ver partículas sueltas de virus de un tipo y unas dimensiones similares a aquellas descritas por Takahishi en un virus de las crucíferas de difícil identificación (59) y por Bawden y Nixon (en un trabajo aún no publicado) en la savia clarificada de plantas infectadas con el virus del Anillo Negro de la col. Pero además, y esto es lo más interesante, hemos podido observar partículas de virus formando haces que, por sus dimensiones, nos llevan a creer sean las fibras que se pueden observar en el microscopio corriente formando los cuerpos X, o sea que estas fibras están constituídas casi totalmente por partículas de virus agregadas y, casi todas, orientadas en un mismo sentido (fig. 6).



Figs. 1 y 2.

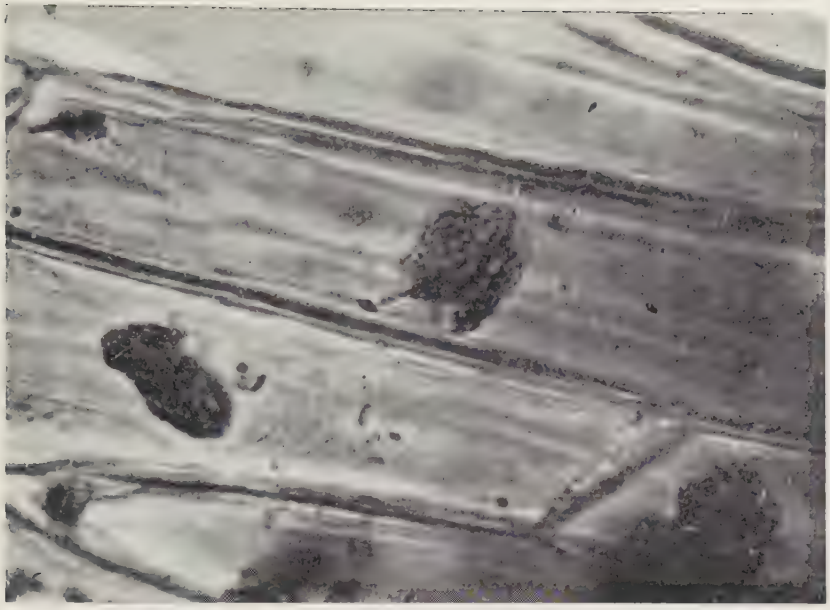


Fig. 3.

Anillo negro de la col: Cuerpos x en células epiteliales de hoja de Br. Chinensis; en el de la parte superior se aprecia la estructura fibrosa.

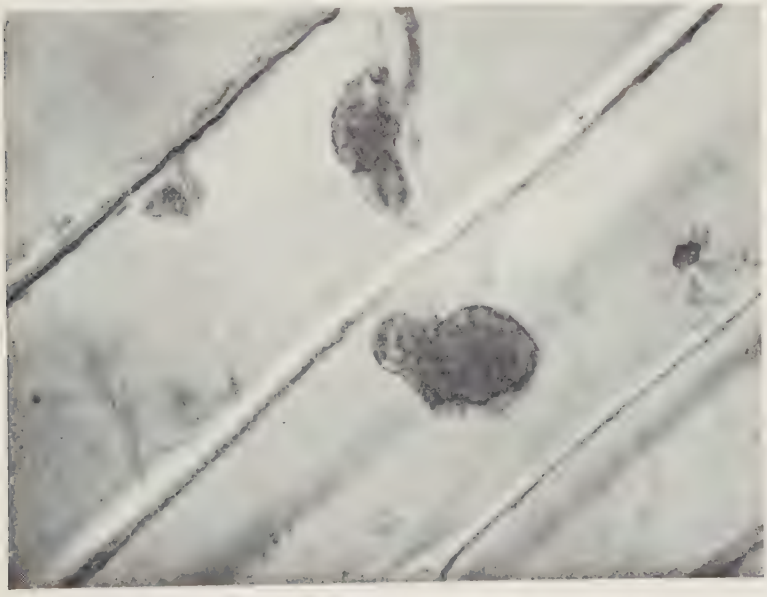


Fig. 4.

Anillo negro de la col: Cuerpos x compactos.

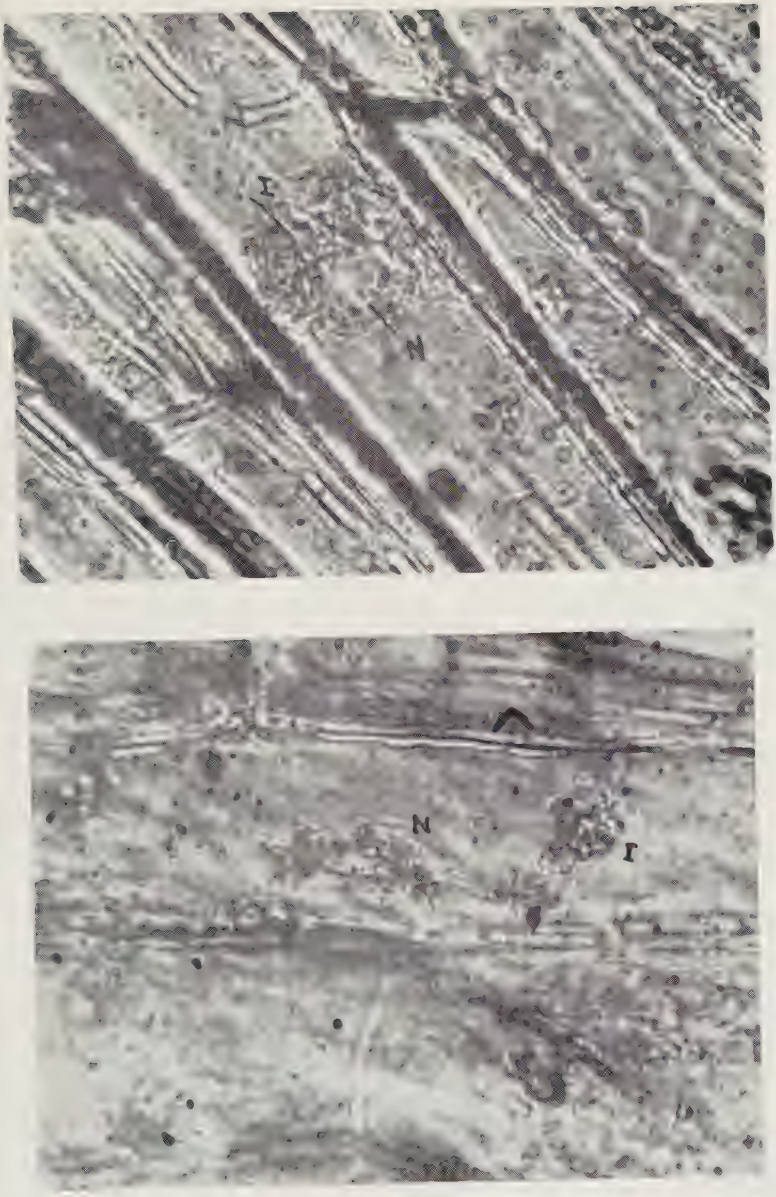


Fig. 5.

Anillo negro de la col. Inclusiones.

N = Núcleo.
I = Inclusión.

Fig. 6.

Anillo negro de la col: Micrograma de una fibra de un cuerpo x mostrando estar formada por partículas de virus.

× 72.000

Fig. 7.

Anillo negro de la col. Micrograma como el anterior. × 72.000

Mosaico de la Coliflor.

Sinónimos: Brassica virus 3 (Smith), Cauliflower mosaic virus (Tompkins, 1934).

Propiedades: Permanece infectivo este virus de catorce a quince días, en savia extraída.

El punto térmico de inactivación es a los 75°C. durante diez minutos y su punto de dilución extrema es de 1 en 2.000 aproximadamente.

Transmisión: Es transmisible por la savia y por insectos; de éstos, los principales son: Myzus Persicae Sulz y Brevicoryne Brassicae L.

Principales plantas susceptibles: Infecta gran cantidad de crucíferas y, sobre todo, a las variedades cultivadas, en las que causa grandes pérdidas, ya que reduce considerablemente el tamaño de las plantas. No infecta Nicotiana Tabacum, ni ninguna otra solanácea.

Histopatología: inclusiones: Estas inclusiones son también del tipo amorfo o cuerpos X como los del Anillo Negro de la col, pero bastante diferentes en algunos aspectos a aquéllas, y como en general a casi todos los cuerpos X hasta ahora descritos. Estas inclusiones nos pareció verlas, por primera vez, en unas plantas B. Chinensis infectadas, en un invernadero de Cambridge; pero las plantas se perdieron y no seguimos las observaciones; encontrándolas más tarde en B. Napus infectada espontáneamente con el mismo virus en el campo, y pudiendo luego verlas en una serie de B. Chinensis y B. Napus infectadas por nosotros para seguir su formación.

Morfología: Son generalmente esféricos u ovoides, pero, algunas veces, pueden ser de una forma muy irregular. Tienen siempre un contorno claramente definido y son muy refringentes. Una característica especialísima es que estos cuerpos X nunca aparecen vacuolados.

Cuando se observan al microscopio sin teñir y, aún mejor, teñidos con floxina o verde luz, se puede apreciar en ellos una zona algo más refringente que les rodea, sugiriendo el aspecto de una membrana. Hemos tenido la ocasión de observar algunos de estos cuerpos X que en el proceso de arrancamiento de la tira de células de la epidermis foliar se había roto y en ellos se podía distinguir con bastante claridad la presencia de esta membrana externa (figura número 12). Su conducta cuando son colocados en una solución de NaOH al 10 por 100, en la que se hinchan sin perder la forma ni desmoronarse, hasta alcanzar casi el doble de su volumen primitivo, parece indicar también esto.

Hasta ahora, aunque algunos autores como Henderson-Smith y otros decían que les había parecido ver una membrana rodeando cuerpos X de los inducidos por el Mosaico del Tabaco en las células de las plantas atacadas por él, no han podido obtener ninguna evidencia de ello.

Formación: Estas inclusiones aparecen en las células de las plantas in-

fectadas más tarde que aquellas de Anillo Negro de la Col. De tres a cinco semanas después de la inoculación y algo después (aproximadamente de ocho a diez días) de la aparición de los primeros síntomas externos, y principalmente en las hojas más viejas, aparecen pequeños cuerpos esféricos, que llegan a alcanzar en algunos días el tamaño del núcleo o a veces mayor. Estos cuerpos mayores no parece que se formen, como se ha visto en los cuerpos X, en los que hasta ahora se conoce su formación por agregación de pequeñas partículas, o de estos pequeños cuerpos esféricos, sino que estas esferitas parecen crecer por sí mismas, con un crecimiento interno, hasta alcanzar este tamaño.

Generalmente se encuentra una inclusión en cada célula, pero no es nada raro encontrar siete y hasta diez en una sola. Cuando esto ocurre, una de ellas suele ser mayor que las otras, que, normalmente, se encuentran pegadas al núcleo; a veces, cuando son pequeñas, se confunden con nucleolos, pues se hallan incrustadas en el núcleo y son tan semejantes a ellos en forma, refringencia y propiedades de tinción que es casi imposible distinguirlos de ellos hasta que se hacen mayores y se ven fuera del núcleo.

Propiedades: Estas inclusiones no son solubles en agua, alcohol, cloroformo y sulfuro de carbono; resisten un pH de 2 a 3 y con NaOH al 10 por 100 se hinchan rápidamente sin perder la forma, hasta casi dos veces su tamaño, pero tardan de veinticuatro a cuarenta y ocho horas en disolverse. También dan reacción positiva de proteínas con el reactivo de Millon.

Estos cuerpos X son muy resistentes y se pueden dejar secar y manejar con agujas sin que se deterioren, mostrando una suerte de elasticidad.

Hemos colocado alguna de estas inclusiones, extraídas de la célula de la misma manera que las del Anillo Negro de la col, en la rejilla-porta del microscopio electrónico, para su observación, pero resultaron demasiado gruesas para ser examinadas con fruto; así que tuvimos que deshacerlas entre dos portas o con ayuda de finas agujas. Estos trozos de inclusiones, suspendidos en agua destilada, los pusimos para su observación en el microscopio electrónico, obteniendo algunos microgramas en los que, como única cosa que se separaba de los microgramas obtenidos con planta sana de la misma especie, edad y manipulada de la misma manera, hemos visto unos bastoncillos gruesos, más que las usuales partículas de virus, y largos, de dudosa interpretación, pero que procuramos aclarar en el capítulo de «Discusión». Hemos repetido varias veces estas preparaciones y siempre hemos obtenido el mismo tipo de bastoncillos mezclados con elementos normales de la célula. (Fig. 14.)

De este virus se han hecho intentos de purificación y observación en el microscopio electrónico (Bawden, sin publicar) sin que se haya obtenido ningún resultado.

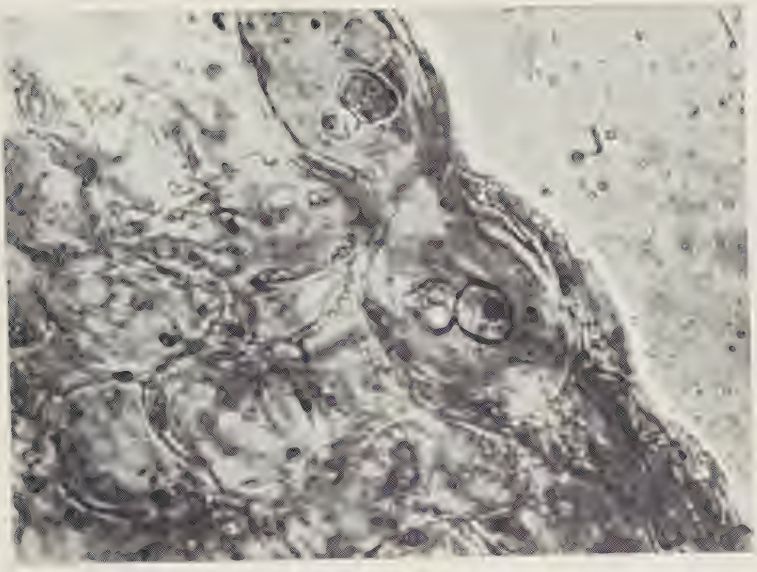


Fig. 8.

Mosaico de la coliflor: Corte de hoja con inclusiones típicas.

Fig. 9.

Corte de una hoja mostrando inclusiones.

Fig 10

Mosaico de la coliflor: Inclusión y núcleo.

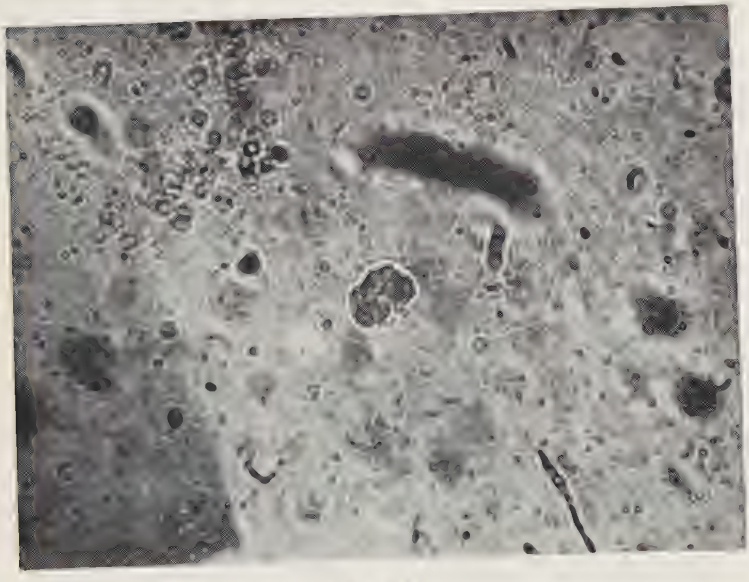


Fig. 11.

Mosaico de la coliflor. Inclusión extraída de la célula y aislada.

Fig. 12.

Mosaico de la coliflor: Cuerpo x, en el que se puede apreciar la existencia de una membrana externa, rota en la parte superior.

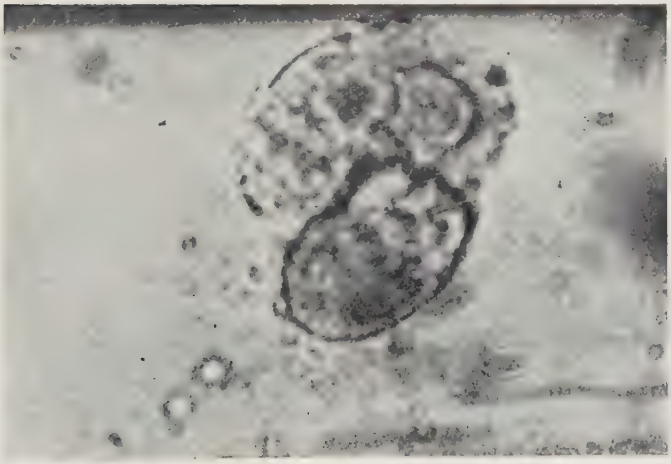


Fig. 13.

Cuerpo x sobre un núcleo.

Fig. 11

Mosaico de la coliflor: Micrograma de un trozo de cuerpo x. × 56.000

Mosaico amarillo del nabo.

Sinónimos: Turnip Yellow (Markham y Smith, 1946).

Propiedades: Punto térmico de inactivación: el virus se inactiva al ser calentado a temperaturas entre 70 y 75° C. durante diez minutos. Su punto de dilución extrema es de unos 10^{-5} a 10^{-6}, variando el contenido de virus en la savia según las condiciones de cultivo, etc., de las plantas. Este virus ha sido purificado, cristalizando en pequeños octaedros isótropos y con caras cúbicas desarrolladas también, al ser precipitado por solución saturada de sulfato amónico.

Al microscopio electrónico se ha visto (Cosslet y Markham, 1948) que las partículas de este virus son de forma esférica y de 19,5 micras de diámetro.

Transmisión: Este virus es muy infectivo; se transmite fácilmente por inoculación con savia y por insectos, pero se ha visto que, contrariamente a lo que pasa con la mayoría de los otros virus, los de tipo chupador no los transmiten. Lo hacen, en cambio, diversas especies de Phyllotreta: P. Undulata, P. Cruciferae, P. nemorum y P. atra; además el Phaedon cochleariae y su larva son también vectores. Algunos ortópteros transmiten también este virus, como el Leptophytes punctatissima Bosc. El acrídido Stauroderus bicolor Charp. y las forfículas: Forfícula auricularia Linn.

Histopatología, inclusiones:

Formación y morfología: Una vez aparecidos y extendidos los síntomas externos por toda la planta (intenso mosaico que parece un variegado) sólo observamos inclusiones en las áreas amarillas cloróticas; en éstas se ven, al lado de células normales, otras, que muestran las diferentes fases graduales de degeneración de algunos elementos celulares, principalmente de los plastidios y cloroplastos para formar los cuerpos X. Estas fases son las siguientes: de la célula normal en la que los plastidios y cloroplastos ya formados se encuentran, generalmente rodeando al núcleo algunos, y otros diseminados por el citoplasma, pero siempre distribuídos alrededor de las paredes celulares, se pasa a la primera fase: En ésta se puede apreciar que los cloroplastos y plastidios empiezan a agruparse en una o dos masas, sin perder cada uno de ellos sus propias características morfológicas y de tinción, puesto que siguen sin teñirse al ser tratados por una solución de floxina al 0,5 por 100 sin fijar previamente.

Segunda fase: Aquí se muestra un agrupamiento de plastos entre sí y a veces es difícil distinguirlos unos de otros en las masas más compactas y morfológicas. En este momento estas inclusiones se tiñen fuertemente con la floxina en las condiciones antedichas; demostrando esto que, al mismo tiempo que un cambio morfológico, se empieza a operar en ellos un cambio químico, ya que los cloroplastos y plastidios no se tiñen normalmente con ese colorante, en esas condiciones.

Tercera fase: En esta fase, las masas formadas por los cloroplastos se hacen homogéneas, muy refringentes y vacuoladas; es imposible reconocer, en la mayoría de ellas, traza de sus componentes, formando ya un verdadero cuerpo X del tipo ameboideo del Mosaico del tabaco, con todas sus características morfológicas. En este momento estas inclusiones se tiñen fuertemente con la floxina.

De estos cuerpos X podemos encontrar dos tipos: unos tal como el descrito y otro en el que el cuerpo X queda formado por una red de forma de panal de abejas integrado por las membranas de los cloroplastos, unidas entre sí y habiendo perdido su contenido.

Ambos tipos de inclusiones dan reacción de proteínas con el reactivo de Millon y las reacciones de tinción usuales en los cuerpos X en general.

Se pueden diferenciar perfectamente las inclusiones ya formadas, de los cloroplastos y de los primeros agrupamientos de éstos, no sólo por su mayor afinidad con la floxina, sino también porque se disuelven en unos minutos en una solución de NaOH al 10 por 100, mientras que aquéllos permanecen intactos.

Como vemos, en la formación de estas inclusiones no aparecen tampoco pequeñas partículas refringentes, sino que parece haber una acción directa del virus sobre los plastidios y cloroplastos ya formados, haciéndoles juntarse para formar estas masas, en las que cada uno de ellos pierde su identidad para fundirse con los demás en un proceso degenerativo o, a veces, ser destruídos, una vez unidos, de tal forma que de toda su estructura sólo queden las membranas. Todo esto parece indicar un parasitismo directo del virus sobre los plastidios y cloroplastos con preferencia a otros elementos celulares.

Con este virus no hemos podido hacer nada en el microscopio electrónico, pues cuando hicimos este trabajo no nos fué posible disponer de él.

INCLUSIONES PRODUCIDAS POR VIRUS DE SOLANACEAS

Mosaico Aucuba del tabaco.

Sinónimos: Tomato aucuba mosaic virus (Bewley), Nicotiana virus 1 C, Tobacco virus 6 (Mckinney), Yellow Tobacco Mosaic virus (Mckinney, 1926).

Propiedades: Kunkel demostró por pruebas de inmunidad cruzada, que este virus es una variación, una estirpe del mosaico corriente del tabaco, pero con acusadas características propias, sobre todo en la que respecta a las reacciones de las plantas infectadas, como, por ejemplo, Nicotiana Tabacum, en quien este virus produce lesiones necróticas y nunca da una infección siste-

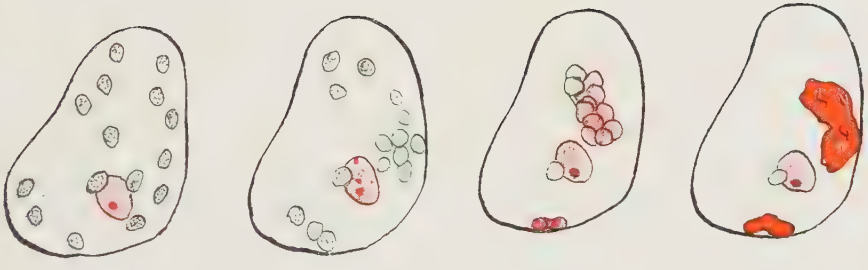


Fig. 15

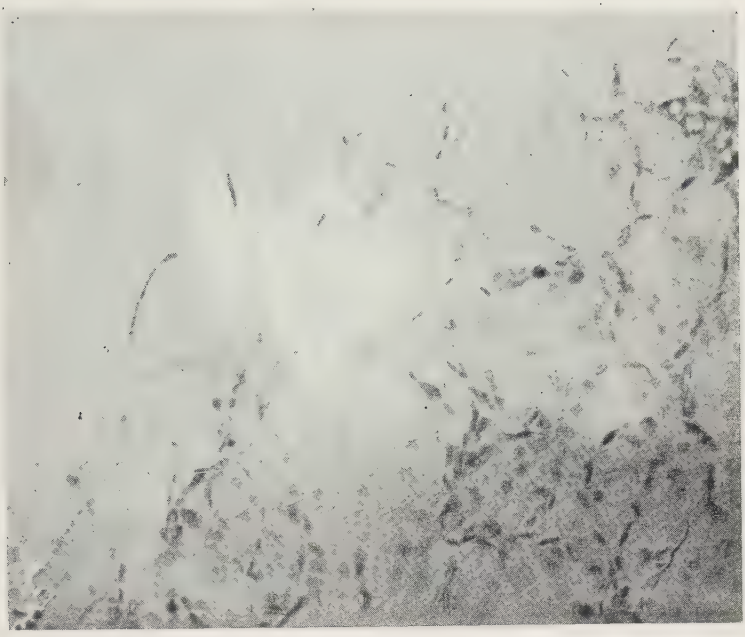


Fig. 16.

Corte de planta sana. Véase la diferencia con la fotografía siguiente.

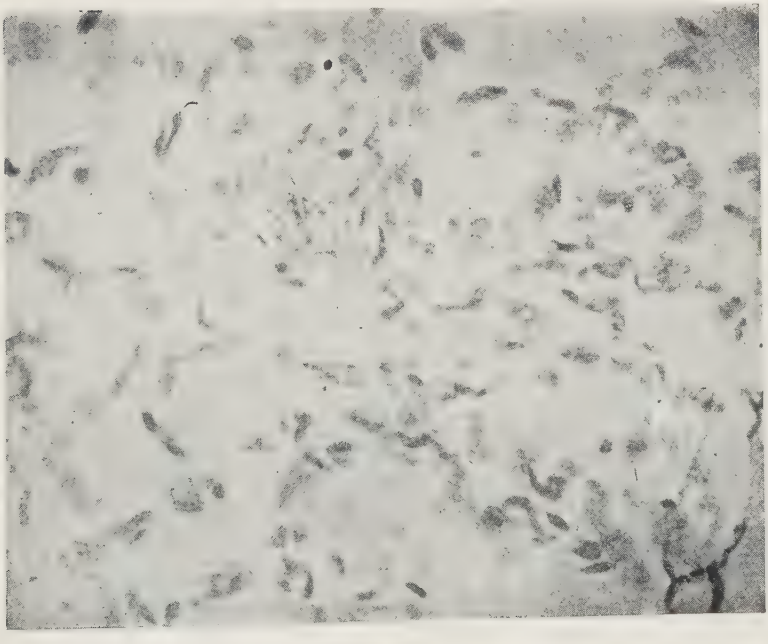


Fig. 17.

Mosaico amarillo del nabo: Corte de planta enferma mostrando los cloropastos formando masas vacuoladas.

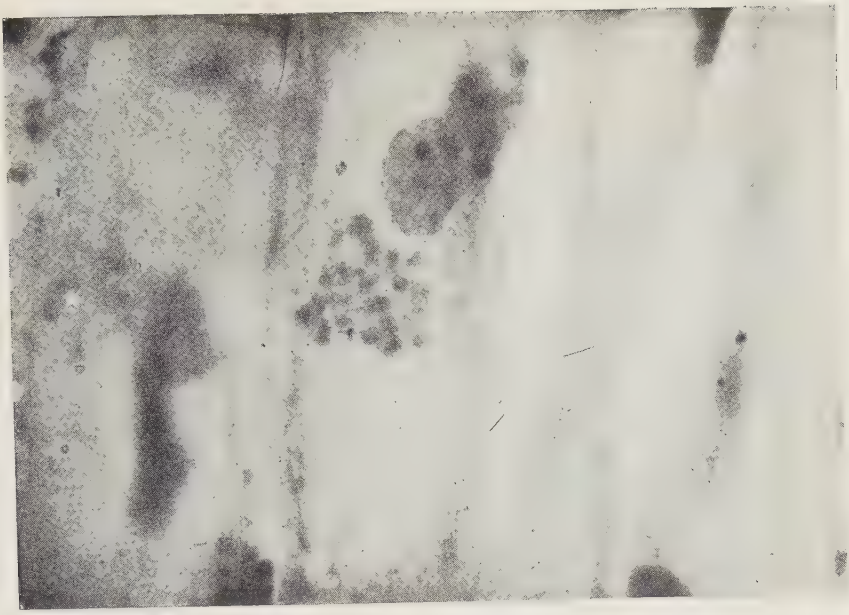


Fig. 18.

Mosaico amarillo del nabo: Reunión de cloroplastos en una fase de la formación de cuerpos x.

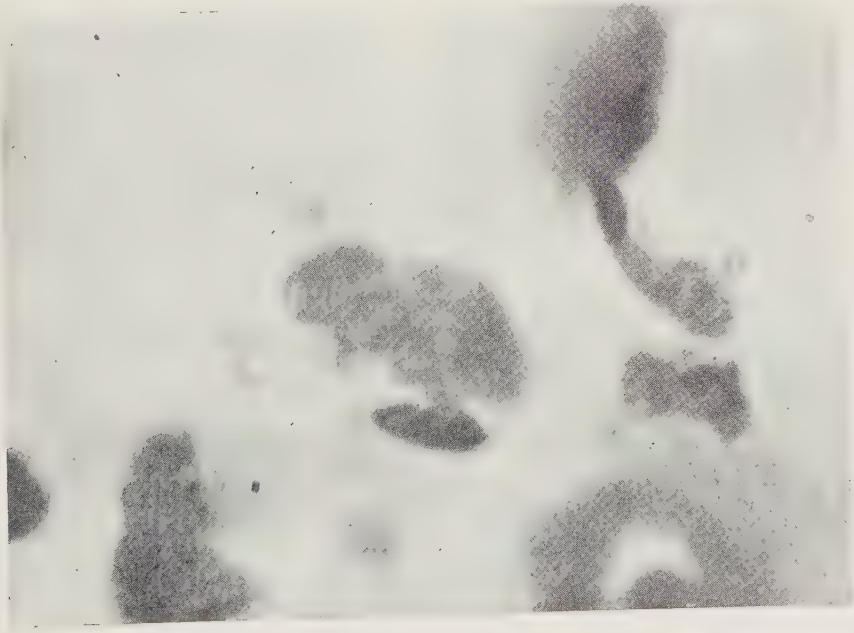


Fig. 19.

Mosaico amarillo del nabo: Cuerpo x ya formado.

Fig. 20.

Mosaico aucuba: Partículas de virus que por su ordenación parecen proceder de una partícula cristalina nacida en el seno de un cuerpo x.

× 72.000

Fig. 21.

Mexico 20608: Partículas de vírus formando haces.

× 72.000

mática; al contrario de lo que le sucede al Mosaico corriente del tabaco. Los síntomas en las plantas de tomate, aunque sea también mosaico como el inducido por el virus corriente del tabaco, varían en que el mosaico producido por el Aucuba es mucho más fuerte y con manchas amarillas muy claras; de ahí su sinónimo de «yellow».

Las demás propiedades son casi las mismas que las del Mosaico del Tabaco. Así este virus se conserva varios años sin inactivarse en la savia sin diluir. Su punto térmico de inactivación es de 93° C. durante diez minutos y su punto extremo de dilución es de 1 en 1.000.000 aproximadamente.

Transmisión: Este virus es solamente inoculable por la savia. Hasta ahora no se le conoce ningún insecto vector.

Principales plantas susceptibles: Atacan a gran número de plantas de diferentes familias pero se le encuentra, principalmente, en la de las solanáceas.

Histopatología: inclusiones: Este virus produce dos clases de inclusiones, unas del tipo amorfo y otras del tipo cristalino, similares éstas a las producidas por el Mosaico del Tabaco, consistiendo principalmente en placas y agujas cristalinas. Aquí sólo trataremos de las amorfas.

Las inclusiones amorfas producidas por este virus han sido de las más estudiadas hasta ahora, principalmente por Sheffield (1931), quien determinó la secuencia de fenómenos que llevan a la formación de estos cuerpos X (hasta obtuvo una película con las distintas fases). Esta formación es la siguiente:

A poco de la infección aparecen en el citoplasma pequeños gránulos refringentes de naturaleza proteínica, y los cuerpos X son formados por un proceso de fusión de estas partículas, que uniéndose forman una o dos masas granulares, las cuales más adelante adquieren una forma redondeada que puede llegar a vacuolarse.

Dentro de estos cuerpos X, con el tiempo, se forman pequeños cristales proteínicos que pueden aumentar de tal manera, que todo el cuerpo X se convierta en una sola masa cristalina, dando así origen a una inclusión de tipo cristalino igual que las otras que aparecen en la célula sin intermedio de los cuerpos X.

Reacciones: Dan las usuales reacciones coloreadas de proteínas y se tiñen con los métodos corrientes de tinción en las inclusiones amorfas. La mayor parte de la masa que constituye estos cuerpos X es soluble en agua.

Hemos tomado de estas inclusiones amorfas, según nuestro procedimiento ya explicado, para observarlas en el microscopio electrónico, pero debido a que al ser puestas en el agua destilada se desintegran rápidamente y que eran de las que contenían en su interior abundantes cristales pequeños, es posible que hayamos tomado con la micropipeta bastantes de ellos; así, en los micrograma obtenidos observamos, sobre todo en alguno de ellos (número 20), que coinciden con los obtenidos al observar las inclusiones cristalinas solas. De

todas formas, en una de ellas (número 21) se ven muy bien las partículas de virus orientadas y formando haces, como vimos en los electrogramas del Anillo Negro de la col; creyendo correspondan éstos a las fibras cortas que integran el cuerpo X con elementos granulares y los cristales antedichos.

Virus 1 del Hyoscyamus.

Sinónimos: Hyoscyamus virus 1 (Hamilton) Hembane mosaic, Hyoscyamus virus 3 (Hamilton, 1932).

Propiedades: Punto térmico de inactivación. El virus es inactivado en la savia sin diluir a una temperatura de 60° C. durante diez minutos. Resiste solamente veinticuatro horas sin inactivarse en la savia clarificada a la temperatura de la habitación.

Transmisión: Es transmisible por la savia y por el áfido Myzus Persicae Sulz.

Principales plantas infectadas: Hasta ahora sólo se le conoce como parásito de plantas de la familia de las Solanáceas. Fué encontrado en Harpenden (Inglaterra) sobre Hyoscyamus, siendo ésta la única vez que se le ha encontrado espontáneo.

Histopatología: Inclusiones: Estos cuerpos X son del mismo tipo granular que aquellos inducidos por el Mosaico Aucuba del tomate: son también redondeados, pero de forma más irregular y de mayor tamaño; a veces ocupan la mayor parte de la célula. Se encuentran principalmente en las células de la epidermis de las hojas, en las de los pelos y en algunas células de la empalizada.

Formación: Estos cuerpos X se forman de la misma manera que los producidos por el Mosaico Aucuba del tomate y también, como ellos, contienen a veces, sobre todo cuando llevan ya bastante tiempo formados, pequeños cristales, pero, a diferencia de los del Mosaico Aucuba, nunca llegan a ser completamente cristalinos; por otra parte, este virus no produce inclusiones del tipo cristalino, como las del Mosaico del Tabaco.

Reacciones: Estas inclusiones dan también las usuales reacciones de las proteínas. No son solubles en agua y son mucho más estables que los del Aucuba; pueden ser extraídos de las células y aislados sobre agua destilada y hasta ser desecados, sin que se desintegren o estropeen; así es bastante fácil manejarlos con finas agujas.

Hemos obtenido con ellos algunos micrograma en el microscopio electrónico, uno de los cuales (fig. número 22) muestra claramente la perfecta ordenación de las partículas de virus para formar una de las pequeñas partículas cristalinas que se encuentran dentro de las inclusiones amorfas, y se puede ver el bloque, compacto y de contorno regular, formado.

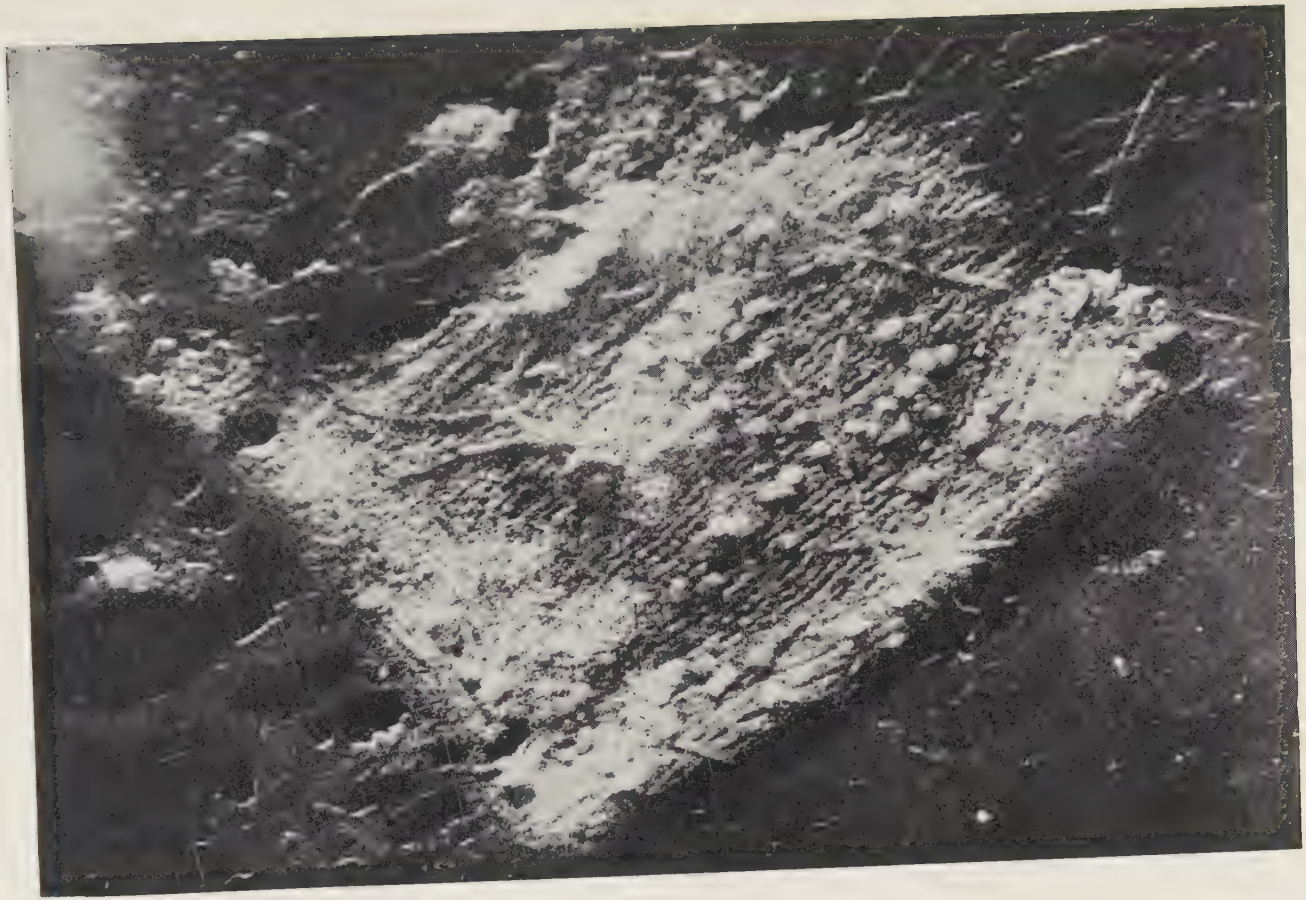


Fig. 22.

Virus del hyoscyamus: Trozo de cuerpo x. × 72.000

Fig. 23.

Grabado intenso del tabaco: Micrograma de un trozo de cuerpo x mostrando en algunas partes (1 y 2) que está compuesto por partículas de virus.

× 72.000

Fig. 21.

Grabado intenso del tabaco: *Partículas de virus acompañadas de una sustancia sin identificar.*

× 72.000

Fig 25.

Enrodado verdoso del tabaco: Micrograma de un trozo de cuerpo X. Partículas de virus enmascaradas. Nótese la ordenación linear.

× 72.000

Grabado intenso del tabaco.

Sinónimos: Severe Etch Virus, Tobacco Virus 13 (Johnson E. M.), Tobacco Etch Virus (Johnson, 1930).

Transmisión: Es transmisible por la savia y por insectos; de éstos, los principales son: Myzus Persicae Sulz y M. Circumflexus Buzt.

Principales plantas susceptibles: Ataca este virus, principalmente, a las solanáceas; en tabaco produce un moteado y necrosis de venas que aparecen con un fino grabado en marrón oscuro sobre la hoja, de ahí su nombre; necrosis que acaba por destruir la planta en la mayoría de los casos.

Histopatología: inclusiones: Este virus produce dos clases de inclusiones: unas, del tipo amorfo o cuerpos X, en el citoplasma, y otras, cristalinas, intranucleares.

Es muy interesante ver que éste es uno de los dos únicos virus de plantas, hasta ahora conocidos, que producen inclusiones intranucleares (Kassanis, 1939), pues en los virus animales las inclusiones intranucleares son tan comunes como las del citoplasma.

Kassanis comparó las propiedades de estas inclusiones con las producidas por el virus de la enfermedad poliédrica de los gusanos de seda con las que le pareció encontrar tenían cierta semejanza.

Nosotros, siguiendo este trabajo solamente con las inclusiones intracitoplásmicas del tipo amorfo o cuerpos X, sólo nos limitaremos a estudiar aquí éstas.

Los cuerpos X producidos por este virus son del tipo granular, mayores que los del Aucuba, ovoides y algo más difusos que aquellos y los del Hyoscyamus. Generalmente sólo se hacen vacuolados en una fase final, preparatoria para su disolución; en esta fase suele pasar la inclusión, de ser granular, a estar formada como agujas o fibrillas no muy compactas, pero nunca llegan a formar o convertirse en una inclusión cristalina.

Formación: Estas inclusiones se forman de la misma manera que las del Mosaico Aucuba del tomate (Sheffield, 1941).

Reacciones: Dan las reacciones usuales de proteínas y además parece que contienen más cantidad de glóbulos de grasa que la generalidad de las inclusiones estudiadas.

Resisten perfectamente el ser manejados por agujas y hasta se pueden partir en trozos sin que se desmoronen, pero si se tienen bastante tiempo en agua destilada acaban por desintegrarse.

Siguiendo los procedimientos explicados más atrás, hemos obtenido algunos microgramas con el microscopio electrónico que, en un principio, nos llenaron bastante de confusión, en los que, al lado de partículas sueltas del virus, veíamos unos bloques de material compacto, de ángulos duros y algo semejantes a los encontrados por Sheffield en 1946, que estudiando estas inclusiones con el microscopio electrónico vió, principalmente, cantidades de material desconocido,

con partículas de tamaño muy por debajo de los límites de resolución del microscopio electrónico, y cristales de forma rectangular y a veces rómbicos, pero sin poder ver su estructura. Así, en un principio, llegamos a creer que estas inclusiones pudieran estar formadas por alguna sustancia segregada por la planta y no por el virus mismo, como hasta ahora habiámos visto era la regla general; pero, repitiendo varias veces las preparaciones, tuvimos la suerte, más adelante, de obtener un micrograma en que en uno de estos bloques, en una pequeña zona sobre uno de sus lados, se pueden ver, si se mira detenidamente, partículas de virus orientadas paralelamente la mayoría, y otras, en forma de haz. También en la parte superior, a la derecha, se ve una partícula de virus que se une, hasta confundirse, con el bloque. Esto nos hace creer que esos bloques están formados por partículas de virus, en su mayor parte, como los demás cuerpos X y en éstos se encuentran recubiertas por una sustancia que las enmascara y que probablemente es de naturaleza lipoide (figs. 23, 24 y 25).

DISCUSION

Hemos estudiado los cuerpos X, hasta ahora no descritos, producidos en las células de sus huéspedes por tres virus de crucíferas, comparándoles morfológicamente y en sus propiedades, con las inclusiones típicas, ya conocidas, producidas por otros tres virus; además, siguiendo una técnica propia, hemos procurado estudiar en el microscopio electrónico los cuerpos X inducidos por los seis virus.

Así, hemos visto como estos seis tipos de cuerpos X difieren ligeramente entre sí en morfología, formación y propiedades; principalmente, los inducidos por el Mosaico de la coliflor no sólo difieren de los otros en el aspecto y modo de formación, sino que, al ser observados con el microscopio electrónico, no hemos podido encontrar en ellos partículas que pudiéramos identificar, sin ninguna duda, como de virus, aunque pudiera ser que estas partículas se hallasen enmascaradas por sustancias producidas por la célula, como sucede en el caso del virus del Grabado intenso del tabaco (Severe Etch virus), en que dichas partículas parecen estar enmascaradas por una sustancia, probablemente de tipo lipoide. Hemos visto en los demás, como característica principal y común a todos ellos, la de estar constituídos, casi en su totalidad, por partículas de virus, que, generalmente, se agregan, ordenándose de una manera más o menos regular, para formar fibras o cristales, según los casos.

Hasta ahora, se sabía que los cuerpos X, por lo menos los producidos por la estirpe Aucuba del Mosaico del Tabaco, contenían virus, porque habiéndolos aislado, lavado cuidadosamente e inoculado a plantas sanas, producían infecciones (Sheffield, 1939); resultando, más tarde confirmado por Sheffield mismo en 1946, al observar suspensiones de las inclusiones, obtenidas absorbiendo

parte del contenido de los cuerpos X con una micropipeta manejada por medio de micromanipulador y conteniendo agua destilada, solución salina isotónica o solución 0,1 M de sulfato amónico. Encontró así algunas partículas de virus sueltas, en el caso del Mosaico Aucuba. Tratando de la misma manera los cuerpos X producidos por el Grabado intenso del tabaco (Severe Etch virus) encontró, en cambio, cristales sólo visibles en el microscopio electrónico.

Respecto a estos ultramicrocristales, nosotros hemos visto que están formados por partículas de virus recubiertas o enmascaradas por una sustancia no identificada, pero, probablemente de naturaleza lipoide, y, respecto a los cuerpos X formados por el Mosaico Aucuba e Hyosciamus y por el Anillo Negro de la col, valiéndonos de nuestra técnica de tomar trozos de inclusión, o sea fibrillas que forman parte íntima del cuerpo X, hemos podido conseguir no sólo el ver que contenían virus, sino la manera en que estas partículas de virus están contenidas y la comprobación de que la mayor parte de la inclusión está constituída por virus, dado el poco material extraño hallado.

Teorías sobre la causalidad de los cuerpos X.

Los resultados obtenidos por Sheffield (1931, 1934) sugirieron que los cuerpos X del Mosaico del Tabaco y del Mosaico Aucuba, consistían en material normal del citoplasma, coagulado y precipitado; y el punto de vista de que estas inclusiones eran productos de reacción de la planta, llegó a ser generalmente adoptado. Más adelante se hizo necesario cambiar este punto de vista, al comprobar Sheffield mismo que los cuerpos X están constituídos en su mayor parte de virus, pensándose que habían de formarse por precipitación del virus en el citoplasma a causa de diversos cambios de las condiciones químico-físicas de éste. Todo esto basándose en el comportamiento «in vitro» de preparados de virus purificados, frente a cambio de pH y presencia de electrolitos.

Las soluciones neutras de virus del Mosaico del tabaco son opalescentes; añadiendo ácido hasta alcanzar un pH entre 3 y 4, el virus se hace insoluble y precipita en la forma de agujas birrefringentes, microscópicamente visibles.

Beale, en 1937, ha mostrado el parecido que tienen estas agujas con las «estriaciones» o agujas producidas por Iwanoski y Goldstein (1924) al añadir ácido a células conteniendo inclusiones de tipo cristalino producidas por virus; Beale también demostró que las variaciones de pH y de solubilidad de las agujas así producidas en las células, son, aproximadamente, las mismas que las del virus purificado, «in vitro».

También tiene influencia en la precipitación del virus en forma, frecuentemente, fibrosa, la presencia de electrolitos; así, vemos que soluciones neutras de virus purificado, por más que se concentren, no llegan más que a hacerse más y más viscosas hasta que al final pasan a gel; pero si a estas soluciones les aña-

dimos sales, se producen fases sólidas cristalinas de diversos tipos, según la sal y proporciones de la misma. Con fuertes cantidades de sal, la precipitación es rápida y se forman agujas, pero si se le añade sólo concentraciones alrededor de 0,5 N se produce muy lentamente un precipitado de fibras semejantes a las vistas dentro de algunos cuerpos X.

Es posible, también, que el virus precipite en forma de complejo con alguna sustancia de las que habitualmente se encuentran en la célula, ya que, como ha demostrando Kleczkowsky, en 1946, el virus del Mosaico del tabaco se combina, precipitando, con gran número de proteínas y otras sustancias que llevan opuesta carga eléctrica. También el virus precipita cuando se combina con sus anticuerpos.

Acerca de estas explicaciones sobre la formación de cuerpos X nos parece que hay que tener en cuenta que están basadas, todas ellas, en experiencias «in vitro», y las reacciones dentro de la célula son bastante más complicadas, sobre todo contando con que el virus aquí no es un elemento pasivo, como la puede ser «in vitro», sino que está multiplicándose e interviniendo posiblemente, por lo tanto, en todo el complejo sistema enzimático de la célula, puesto que esta reproducción (y ahora no vamos a discutir de qué naturaleza pueda ser) se debe realizar a costa de los elementos celulares apropiados.

Hemos visto en la parte experimental cómo se formaban los cuerpos X a partir de elementos celulares; cómo son los plastidios, más o menos desarrollados (sobre todo en el caso del Turnip Yellow, y es muy posible que en los demás casos), si el virus no ataca directamente a estos elementos; actúa sobre sus primordios, o sea sobre los mitocondrias, o bien, si existen en la célula vegetal (como parece ser) como en la célula animal, sobre los microsomas de Claude (13). Esto parece ser lo natural, dada la composición química de los virus de plantas, hasta ahora conocidos, que se ha visto son nucleoproteínas del tipo ribonucléico y la de los mitocondrias, plastidios y microsomas, que parecen ser, con el nucleolo, los elementos celulares que únicamente poseen ribonucleoproteína (Davison, 1945) (18). Así, si los virus se multiplican, cómo es lo más probable, dentro de estos órganos de la célula, las inclusiones consistirían en masas de estos órganos degenerados, conteniendo virus hasta llegar a estar casi completamente constituídos por partículas de éste; lo que explicaría las transformaciones o variaciones morfológicas que en algunos cuerpos X se observan, en que, de ser granulares pasan a ser fibrosos y, algunas veces, cristalinos; según se orienten las partículas de virus.

Esto también puede explicar los variados y complejos fenómenos de inmunidad e interacción entre virus, así como la influencia de la oscuridad sobre la receptividad de las plantas a los virus, ya que es posible que éstos puedan estar formando un complejo con aquellos elementos de la célula que hemos visto poseen una composición química adecuada a su reproducción y, por eso, al someter a la oscuridad a las plantas antes de ser inoculadas, vemos que son mucho más sus-

ceptibles a la infección (Bawden y Roberts, 1948) (5), pues la oscuridad puede actuar reduciendo los componentes de la célula que interfieren con el establecimiento de partículas de virus en los lugares de multiplicación.

Ya desde hace bastante tiempo ha sido estudiada la hipoplasia producida en las células de las plantas atacadas por virus; los primeros en estudiarlo fueron Doolittle, 1920 (20), Dickson en 1922 (19), Matsumoto y Smith (56), quienes confirmaron que la hipoplasia, en que las células se reducen y las hojas carecen de diferenciación en las típicas capas de mesofilo, es acompañada por la «degeneración de los plastidios». Confirman estas primeras observaciones otros investigadores como Böningk (11), Cook (16) y otros, y todos están de acuerdo en que los síntomas externos de mosaico, necrosis, etc., son debidos a esta degeneración de los plastidios o sus primordios, habiendo quien, como Woods y Dubuy, llega no sólo a pensar ésto, sino a creer que los mismos virus sean producto endógeno de la célula y que estén derivados del condrioma, que, por una serie de circunstancias, se convierte en un agente patógeno.

Como vemos, estas observaciones repetidas sobre la degeneración de los plastidios coinciden con nuestra teoría de formación de cuerpos X, basada en observaciones directas y por la que creemos que estas inclusiones son formadas por agregación y aglutinación de elementos celulares específicos y de composición química parecida a la de los virus, como es el plastidoma, condrioma y microsomas en los que éstos, al encontrar el material adecuado, se reproducen a sus expensas, llegando a formar masas compuestas casi exclusivamente por virus, al ir agotando paulatinamente el sustrato celular.

CONCLUSIONES

1.ª Describimos las inclusiones, hasta ahora no conocidas, producidas por tres virus que atacan a plantas de la familia Crucíferas y exponemos sus propiedades.

2.ª Hemos estudiado la formación de estas inclusiones y, en uno de los tres virus (Turnip Yellow), hemos determinado que eran formadas por masas de plastidios degenerados.

3.ª Hemos visto que las inclusiones producidas por el Mosaico de la coliflor poseen una membrana externa, cosa hasta ahora no demostrada en ningún tipo de inclusión producida por virus en las plantas.

4.ª Comparamos las inclusiones antes citadas con las de otros tres virus del tabaco ya conocidos.

5.ª Empleando un método propio, hemos estudiado cinco de los seis tipos de inclusiones al microscopio electrónico; viendo que en el caso de cuatro de ellos, están formados por partículas de virus agregadas más o menos regularmente, según la fase y edad de la inclusión y en el quinto caso (Mosaico de la coliflor), por partículas no identificadas como de virus.

6.ª Se han discutido y revisado diversas teorías de causalidad de los cuerpos X, exponiendo por nuestra parte que se deben a una agregación y aglutinación de elementos celulares específicos y de composición química parecida a la de los virus, como es el condrioma, en la que éstos se multiplican a sus expensas, llegando de este modo a formar masas compuestas casi exclusivamente por partículas de virus, agregadas y ordenadas, formando en algunos casos fibras y en otros, en que la ordenación es más regular, paracristales y, a veces, inclusiones cristalinas.

* * *

He de dar las gracias, ante todo, al Consejo Superior de Investigaciones Científicas, cuya beca hizo posible la realización de este trabajo. Al Profesor Dr. don Lorenzo Vilas, Catedrático de la Facultad de Farmacia de Madrid, por su dirección, consejo y ayuda; a don Eliseo Gastón de Iriarte, Catedrático de la Facultad de Farmacia de Barcelona; a don Juan Rodríguez Sardiña, Ingeniero Agrónomo de la estación de Fitopatología Agrícola de la Coruña; al Dr. Kenneth M. Smith, de la Plant Virus Research Unit, Cambridge (Inglaterra); a Mr. F. C. Bawden, de la Rothamsted Exp. Station, de Harpenden (Inglaterra), y a Mr. H. L. Nixon de la misma Estación experimental por las microfotografías de mis preparaciones en el microscopio electrónico.

SUMMARY

Three Types of intracellular inclusion formed by Cabbage Black ring virus, cauliflower Mosaic and Turnip Yellow Mosaic in the cells of their hosts are described and compared.

The presence of an external membrane in the inclusions from Cauliflower Mosaic has been confirmed.

The mode of formation varies in the three types of inclusion being in Cabbage Black Ring like those described by Sheffield in Aucuba Mosaic. In Cauliflower Mosaic the inclusions are formed from a single particle by an internal growth and in Turnip Yellow Mosaic from the coalescence in a vacuolated body of degenerate plastids and chloroplasts.

These three types of inclusion and three more, already well Known, from Aucuba Mosaic, Hembane Mosaic and Severe Etch Virus, have been compared in the electron microscope.

The nature of intracellular inclusions and their causality is discussed briefly in the light of the recent work in this field.

BIBLIOGRAFIA

(1) **BALD, J. G.** 1948. The structure of plastids and other cytoplasmic bodies in fixed preparations of epidermal strips. **Aust. J. Sci. Res.** Serie B. I., 458-463.

(2) ——— 1948. The developpment of amaeboid inclusions bodies of Tobacco Mosaic Virus. **Aust. J. Sci. Res.** Serie B. I., 452-457.

(3) ——— 1949. Additional methods for fixing and staining viruses in infected plant tissues. **Amer. J. Bot.** 36: 335-342.

(4) **BAWDEN, F. C.** y **KASSANIS, B.** 1945. The suppresion of one plant virus by another. **Ann. App. Biol.** 32-33.

(5) ——— y **ROBERTS, F. M.** 1948. Photosynthesis and predisposition of plants to infection with certain viruses **Ann. App. Biol.** 35: 418-428.

(6) ——— y **KASSANIS, B.** 1949. Some effects of host-plant nutrition on the multiplication of viruses. **Ann. App. Biol.** 37: 215-228.

(7) ——— 1950. Plant viruses and virus diseases. Waltham Mass. U. S. A. Tercera edición.

(8) ——— y **COL.** 1950. The mechanical transmission and some properties of potato paracrinkle virus. **J. of Gen. Microb.** 4: 210-219.

(9) **BENNETT, C. W.** 1940. The relation of viruses to plant Tissues. **Bot. Rev.** 6: 427-473.

(10) **BLACK, L. M.** 1950. Visualisation of Tobacco Mosaic Virus within infected cells. **Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.** 73: 119-122.

(11) **BONING, K.** 1927. Die Mosaikkranheit der rube. **Pflanzenkr. u. d. Inmunität im Pflanzenreich** 3: 81-128.

(12) **CARSON, G. P., HOWARD, H. W., MARKHAM, R.,** and **SMITH, K. M.** 1944. Paracrinkle virus and heritance. **Nature.** 334.

(13) **CLAUDE, A.** 1940. Particulate components of normal and tumor cells. **Science.** 41-77.

(14) **COMAR.** 1942. Chloroplast substance of spinach leaves. **Bot. Gaz.** 104: 122-127.

(15) **COOK, M. T.** 1930. The effects of some mosaic diseases on cell structure and on the chloroplasts. **J. Dep. Agr. Porto Rico.** 14: 69-101.

(16) ——— 1931. The effects of mosaic on cell structure and chloroplasts. **J. Dep. Agr. Porto Rico.** 15: 177-181.

(17) **DARLINGTON, C. D.** 1944. Heredity, developpment and infection. **Nature.** 165.

(18) **DAVIDSON, J. N.** 1945. Cytoplasmic Ribonucleoproteins. **Biochem. J.** 39: LIX-LXI.

(19) **DICKSON, B. T.** 1922. Studies concerning mosaic diseases. **McDonald Coll. Tech. Bull.** 2: 1-125.

(20) **DOOLITTLE, S. F.** 1920. The mosaic disease of cucurbits. **U. S. Dep. Agr. Bull.** 879.

(21) **DUFRENOY, J.** 1942. Modification in cells of plants affected by virus. **Phytopat.** 568-579.

(22) ——— 1942. Coacervates in physical and biological systems. **Phytopat.** 568-579.

(23) ——— 1943. Some physiological relations of virus-infected plant tissues. **Biodynamica** IV: 91-171.

(24) **ESAU, K.** 1938. Some anatomical aspects of plant virus disease problems. **Bot. Rev.** 4: 548-579.

(25) ——— 1944. Anatomical and cytological studies on Beet mosaic. **J. Agric. Res.** 69: 95-117.

(26) ——— 1941. Phloem anatomy of tobacco affected with Curly Top. and Mosaic. **Hilgardia.** 13: 437-490.

(27) ——— 1948. Some anatomical aspects of plant virus disease problems. II. **Bot. Rew.** 14: 413-449.

(28) **GUILLERMOND, A.** 1941. The cytoplasmi of the plant cell. Chronic. Bot. Ed.

(29) **HADDOW, A.** 1944. Transformation of cells and viruses. **Nature.** 194.

(30) ——— 1946. Heterogenesis and the origins of viruses. **Nature.** 406.

(31) **HALDANE, J.** 1949. Introduction. **The Biochem. J.** 44: XIV.

(32) **HALLAUER, C.** y **DOERR, R.** 1939. Handbuch der virusforschung. Julius Springer, Viena.

(33) **HILLS, C. H.** y **McKINNEY, H. H.** 1924. The effect of Mosaic virus infection on the protein content of susceptible and resistent strains of tobacco. **Phytopat,** 33: 857-866.

(34) **HOGGAN, I. A.** 1927. Cytological studies on virus diseases of solanaceous plants. **J. Agric. Res.,** 35: 651-671.

(35) **JEENER, R.** 1949. Distribution of ribonucleic acid in the cytoplasm of growing cells studied with phosphorus 32. **Nature,** 837.

(36) **KASSANIS, B.** 1939. Intranuclear inclusions in virus infected plants. **Ann. App. Biol.,** 26: 705.

(37) ——— 1941. Variations in the cytoplasmic inclusions induced by three strains of Tobacco Mosaic virus. **Ann. App. Biol.,** 28: 360.

(38) **KUNKEL, L. O.** 1921. A possible causative agent for the Mosaic diseose of corn. **Haw. Sugar planters Assoc. Exp. Sta. Bull. Bot.,** 3: 44-58.

(39) ——— 1924. Further studies on the intracellular bodies associated with certain mosaic diseases. **Haw. Sugar Planters Assoc. Exp. Sta. Bot. Bull.,** 3: 115-167.

(40) ——— 1924. Histological and cytological studies on the Fiji disease of sugar cane. **Haw. Sugar Planter Assoc. Exp. Sta. Bot. Bull.,** 3: 99-107.

(41) ——— 1927. The corn mosaic of Hawaii distinct from sugar cane mosaic. **Phytopat.,** 16: 67.

(42) **LWOFF, A.** 1950. Le Synthese de l'amiden chez les leucophytes et la valeur morphologique du rèseau de Volkonky. **The New Phytologist.,** 49: 72-80.

(43) **MANIL.** 1939. Où en est le problème de la nature des ultravirus. **Bull. Soc. Bot. Belg.,** 22.

(44) **MARKHAN, R.** and **SMITH, K. M.** 1946. Turnip Yellow Mosaic. **Nature.** 157. 300.

(45) ——— **SMITH, K. M.** and **WYCKOFF.** 1947. Electron microscopy of tobacco necrosis virus cristals. **Nature,** 574.

(46) **MORIYAMA, H.** and **OHASHI.** 1939. Minute bodies forming protein of vegetable origen and its relationships with viruses. **Chem. Abs.,** XXXII, 11: 4288.

(47) **RAWLINS, T. E., ROBERTS, C.** and **UTCH, N. M.** 1946. An electron microscope study of Tobacco Mosaic virus at differents stages of infection. **Amer. J. Bot.,** 33: 356.

(48) **RODRIGUEZ SARDIÑA, J., MARTINEZ CORDON, F.** y **RUBIO HUERTOS, M.** 1949. Consideraciones acerca de las técnicas de tinción de inclusiones en las virosis vegetales. **Bot. Pat. veg. Ent. agric. Madr.,** 16: 311-320.

(49) ——— y **RUBIO HUERTOS, M.** 1949. Tinción rápida de plastosomas. **Bol. Pat. veg. Ent. agric. Mdr.,** 16: 309-310.

(50) **SHEFFIELD, F. M.** 1934. Experiments bearing on the nature of intracellular inclusions in plant virus diseases. **Ann. App. Biol.,** 21: 430-453.

(51) ——— y **HENDERSON SMITH, J.** 1930. Intracellular bodies in plant virus diseases. **Nature,** 125: 199-201.

(52) ——— 1936. The susceptibility of the plant cell to virus disease. **Ann. App. Biol.,** 23: 498-505.

(53) ——— 1939. Some effects of plant virus diseases on the cells of their hosts. **J. Royal Micros. Soc.,** 69: 149-161.

(54) ——— 1941. The cytoplasmic and nuclear inclusions associated with Severe Etch virus. **J. Royal Micro. Soc.,** 61: 30-45.

(55) ——— 1946. Preliminary studies in the electron microscope of some plant virus inclusion bodies. **J. Royal Micro. Soc.,** 66: 69-76.

(56) **SMITH, J. Henderson.** 1930. Virus diseases in plants. II The amoeboid intracellular inclusions. **Biol. Rev.,** 5: 159-170.

(57) **SMITH, K. M.** 1937. Textbook of plant virus diseases. Churchill Ltd. Londres.

(58) **STANLEY, W. M.,** and **ANDERSON, T. F.** 1941. A study of purified viruses with the electron microscope. **J. Biol. Chem.,** 129: 325.

(59) **TAKAHASHI.** 1949. The morphology and host range of Brassica Nigra virus. **Amer. J. Bot.,** 36: 533-535.

(60) **TAKAHASHI, W. N.** and **RAWLINS, T. E.** 1947. An electron microscope study of mutation in Tobacco Mosaic virus. **Phytopat.,** 37: 73.

(61) **WILDMAN, S. G., CHEO, C. C.** and **BROMER, J.** 1949. The proteins of green leaves III: Evidence of the formation of Tobacco Mosaic virus protein at the expense of a main component in tobacco leaf cytoplasm. **J. Biol. Chem.,** 180: 985-1007.

(62) **WILLIAMS, R. L.** and **WYCROFF.** 1945. Electron micrographs of virus particles. **Proc. Soc. Exp. Biol.,** 4: 265.

(63) **WOODS, M.** and **DUBUY.** Synthesis of Tobacco Mosaic virus protein in relation to leaf chromoprotein and cell metabolism.

(64) ——— 1943. Evolution of phytopathogenic viruses. I: Cytological evidence. **Phytopat.,** 637.

(65) ——— 1943. Evolution of phytopathogenic viruses. II: Chemical evidence. **Phytopat.,** 766.

(66) ——— 1947. Comparative action of viruses and mutant chondriogenes on plant cell **Phytopat.,** 442.

(67) ——— 15-8-47. The action of mutant chondriogenes and viruses on plant celts. Conference on cancer. New London.

(68) **WOODS, M.** 1933. Intracellular bodies associated with Ring-spot. **Contrib. Boyce Thompson Inst.,** 5: 419-434.

(69) **WYCKOFF, R. W. G.** 1945. Some biophysical problems of viruses. **Science.,** 129.

(70) ——— 1947. Electron micrographs from concentrated solutions of the Tobacco Mosaic virus protein. **Biochem. Biophys Acta,** 2: 139.

INFORMACION

V CONGRESO INTERNACIONAL DE MICROBIOLOGIA

Río de Janeiro, 17-24 de agosto de 1950.

Como resultado de la fundación por el Comité de Higiene de la Sociedad de las Naciones de una Sociedad Internacional de Microbiología, proyectada con el fin principal de organizar Congresos de dicha Ciencia, se celebraba el primero de éstos en el Instituto Pasteur, de París, el año 1930. El éxito de esta reunión movió a decidir la celebración de un nuevo Congreso cada tres años. Las dificultades que para el II Congreso, que había de verificarse en Berlín en 1933, se presentaron hicieron que éste tuviera lugar en Londres, en 1936, reuniéndose el III en Nueva York, el año 1939. El IV Congreso, proyectado para 1942 en Dinamarca, hubo de ser aplazado como consecuencia de las circunstancias por que atravesaba Europa por dichas fechas, teniendo lugar, por fin, en Copenhague, del 20 al 26 de julio de 1947. De esta reunión, a la que fueron presentados diversos trabajos por autores españoles miembros de la Sociedad de Microbiólogos, fué dada noticia oportunamente en MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA.

El V Congreso Internacional de Microbiología se inauguraba el 17 del pasado mes de agosto en Río de Janeiro.

El edificio del Ministerio de Educación, lugar de recepción de los congresistas, albergaba una interesantísima exposición de los trabajos efectuados en el país brasileño en bacteriología e inmunología, presentando los datos geográficos y estadísticos relativos a las principales enfermedades infecciosas del país y a las toxinas de serpiente, con el documento «vivo» de las especies más importantes. Esta exposición señalaba, sin pretenderlo, la línea fundamental que había de seguir el Congreso, pues aparte de la Microbiología general, que tuvo gran concurrencia, fué la relacionada con las enfermedades tropicales la más ambientada de todas las secciones.

Su excelencia el Ministro de Educación Nacional, profesor Pedro Calmón, recibió a los congresistas, y posteriormente, en el palacio de Catete, fueron re-

cibidos por S. E. el Presidente de la República del Brasil, general Eurico Gaspar Dutra. Por la tarde, en el teatro Municipal de Río de Janeiro, y bajo la presidencia de las autoridades y de los directivos del Congreso, se celebró el acto de apertura, terminado el cual fueron trasladados los congresistas al Hotel Quitandinha, en Petrópolis, lugar elegido como sede del Congreso.

Prof. Dr. Oylmpio da Fonseca, Presidente del V Congreso Internacional de Microbiología.

Las sesiones se celebraron en dicho Hotel, de capacidad más que holgada para albergar a todos los congresistas extranjeros, disponiéndose además de locales suficientes para el funcionamiento simultáneo de todas las secciones. Los trabajos se desarrollaron conforme al programa previo, recogido oportunamente en esta Revista (*).

(*) MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA. II: 233-39.

Además de las comunicaciones presentadas, cuyos resúmenes han sido publicados en un volumen que se encuentra a disposición de los señores socios en nuestra Biblioteca, se dieron, entre otras conferencias, las siguientes:

Una ojeada sobre el conocimiento actual del complemento y sus funciones, por Michael Heidelberger.

Normalización de los ensayos microbiológicos, por Geoffrey Rake.

Aspectos metabólicos del crecimiento bacteriano en ausencia de la división celular, por Walter J. Nickerson.

El problema de las bacterias lisógenas, por A. Lwoff.

La serología de las Enterobacteriáceas, por F. Kauffmann.

Oswaldo Cruz. Interpretación de una personalidad, por Clementino Fraga.

Enfermedad de Chagas. Estado actual del problema, por A. Vilella.

Control de la rabia, por Herald Cox.

Contribución del Instituto Oswaldo Cruz al estudio de la fiebre amarilla, por H. B. R. de Aragão, C. B. Magarino Torres, S. Lins y H. Penna.

Las fases y la clasificación de las Micobacterias, por Giuseppe Penso.

La identificación de la Rickettsia prowazeki como organismo causante del tifus clásico, por H. da Rocha.

El «Centro de Colecciones de Microbios Tipo» y la «Federación Internacional de Colecciones de Cultivos» celebraron una reunión conjunta, efectuándose además, entre otros actos, un simposium sobre microscopia electrónica y exhibiciones cinematográficas científicos. Se reunieron, asimismo, las distintas comisiones de la Asociación Internacional de Microbiólogos, acordándose en la de Organización de Congresos celebrar el próximo en Roma en 1953.

La representación española que había de asistir se vió dolorosamente disminuída, ya que horas antes de la salida del avión para Brasil, enfermó repentina y gravemente el Presidente de la Delegación y de la Sociedad de Microbiólogos Españoles, Prof. Ing. don Juan Marcilla Arrazola, que fallecía pocos días después, y a cuyo homenaje y mejor recuerdo van dedicadas las primeras páginas de este número, en las que con la sencillez del afecto auténtico, se recoge un relato de la vida y de la obra del que fué gran autoridad científica, amigo cordial y buen pedagogo.

Por el motivo expuesto la Delegación española quedó constituída por el Profesor Dr. Lorenzo Vilas, Catedrático de la Universidad de Madrid y Secretario de la Sociedad, y por el miembro de ésta y Catedrático de la Facultad de Medicina de Barcelona, Prof. Dr. don Justo Covaleda Ortega.

Los trabajos españoles presentados al Congreso fueron los siguientes:

Marcilla, Juan (†); Garrido, José, e Hidalgo, Luis: Contribución al estudio del metabolismo carbonado de las levaduras multiplicadas en anaerobiosis sobre prehidolizados de residuos agrícolas.

Dr. Oswaldo Cruz.

Instituto Oswaldo Cruz.

Dr. Vital Brazil.

Instituto Butantán.

Megías, Gabriel, e Ibáñez, Rafael: Actividad antibacteriana de algunos antihistamínicos de síntesis.

Santa María, Juan: Observaciones sobre un Clostridium productor de alcohol isopropilico.

Vicente, Román: Los bacteriófagos en las aguas residuales, indicadores del estado sanitario.

El día 22 de agosto fué visitado el Instituto «Oswaldo Cruz», uno de los centros más interesantes bajo el punto de vista microbiológico y sanitario. Fundado por el Barón de Pedro Alfonso, estaba formado el núcleo inicial por un pequeño grupo de investigadores, entre los que se encontraba el joven médico Oswaldo Cruz, que ya desde estudiante se había dedicado a la Bacteriología y posteriormente había pasado cerca de tres años en el Instituto Pasteur de París. Más tarde, el Dr. Oswaldo Cruz tomaba la dirección, y haciendo honor a su lema «Saber - Esperar - Querer - Poder» imprimía una actividad creciente a dicho Centro, en un principio Instituto Seroterápico Federal, nombre que era cambiado más adelante por el de Instituto de Medicina Experimental de Manguinhos, recibiendo su designación actual en 1908, como homenaje al Maestro, cuya muerte acaeció en 1917. Los continuadores de la obra del titular, Dres. Carlos Chagas, Cárdoso Fontes y Henrique Aragao, desarrollaron las directrices que trazara Oswaldo Cruz, hasta llegar a los momentos actuales, en que ostenta la dirección persona tan conocida en los medios científicos como es el Dr. Olympio Da Fonseca, que ha hecho llegar a plena madurez las iniciativas que trazara el Maestro, con la colaboración de un brillante y numeroso grupo de investigadores, entre los que recordamos en este momento a los Dres. Arêa Leão, Beaurepaire Rohan, Oswaldo Cruz (hijo), Bastos Magarinos, Lacorte, Miranda, Muniz, Pacheco, Souza Araújo y Travassos.

Durante la visita de los congresistas se celebró un acto de cordial homenaje al Instituto por el Ministro de Sanidad Pública de Bolivia.

En Río también (kilómetro 47 de la carretera de Río a San Pablo) fué visitada la Universidad Rural brasileña, institución digna de todo elogio por el desarrollo logrado en el plazo breve que media desde su fundación hasta los momentos actuales, destinada a influir de modo extraordinario en la prosperidad económica del Brasil.

Otro Centro científico de gran interés recorrido por los congresistas fué el Instituto Butantan, del cual fué fundador y director durante buen número de años el Dr. Vital Brazil, una de las más destacadas figuras de la Sanidad brasileña, orientador de un gran número de investigaciones e impulsor de dicho Centro, que hoy guía acertadamente el trabajo y tesón del Doctor Eduardo Vaz. Este Instituto, situado en Sao Paulo, tiene por misión principal en la actualidad la producción de sueros antiofídicos, disponiendo de un magnífico serpentario,

del que fueron sacados algunos ejemplares para que los congresistas pudieran apreciar la técnica de la extracción de las toxinas.

También fué visitado el Instituto Biológico de San Pablo, dedicado principalmente a los problemas de la Agricultura y la Veterinaria.

Alternando con los actos científicos se desarrolló un programa social, de grato recuerdo para los congresistas.

No podemos terminar estas líneas sin dejar de hacer constar la cordial acogida con que todos los asistentes al Congreso fueron recibidos por sus colegas brasileños y, en particular, la dispensada por el Dr. Olympio da Fonseca y su señora a los dos miembros de la Sociedad de Microbiólogos que asistimos como representantes españoles. Y también las frases de respetuoso sentimiento para la figura de don Juan Marcilla, de cuya muerte se tuvo noticia en plena celebración del Congreso.—**L. V.**

El VII CONGRESO INTERNACIONAL DE BOTANICA

Durante los días 12 al 20 del pasado mes de julio tuvo lugar en Estocolmo el VII Congreso Internacional de Botánica, bajo el alto patronato de S. A. R. el Príncipe heredero de Suecia, y actuando de Presidente el Profesor Carl Skottsberg, de Gotenburgo.

La concurrencia fué numerosa, en número de unos 1.500, siendo la representación de los botánicos norteamericanos la más nutrida entre las de los países no europeos.

La representación española estuvo formada por los Profesores siguientes, comisionados por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas: Doctor Florencio Bustinza, Doctor Manuel Jordán de Urríes, Doctor Elena Paunero y Doctor Salvador Rivas, del Instituto «Antonio José Cavanilles», de Botánica; y Doctor Arturo Caballero López, del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal. Asistieron también, independientemente, los Profesores Doctor Fernando Galán y Doctor Emilio Guinea.

El programa del Congreso, muy amplio, abarcó en sus diferentes secciones temas relacionados de algún modo con muy diferentes aspectos de la ciencia botánica. Entre los que afectan a la Microbiología destacan los estudiados en las secciones de Nomenclatura, Taxonomía de criptógamas, Micología y Fitopatología. A continuación destacaremos algunas de las comunicaciones.

Como ya era de esperar, fueron muy discutidas las proposiciones presentadas en la sección de «Nomenclatura». En sus sesiones, que llegaron a ser algo agitadas, fué difícil unificar criterios en puntos tan importantes como «nombres legítimos», «fechas de partida en la nomenclatura» para los diferentes grupos, nomen dubium, nomina confusa, nomina conservanda, etcétera. Por lo que se refiere a las reglas para la elección de tipos, principalmente en especies descritas por autores antiguos, interesan al micólogo las proposiciones presentadas por el Doctor Rogers y por los Profesores Smith y Wehmeyer. Merece destacarse el complentísimo informe presentado por el Profesor Lanjouw, de Utrech, que recoge todas las enmiendas propuestas de las reglas de nomenclatura botánica. Su «Sinopsis» fué de gran utilidad para preparar las discusiones.

Con anterioridad, el Jardín Botánico de Madrid había enviado su voto preliminar detallado con las distintas modificaciones propugnadas.

Poco, en verdad, se adelantó en esta sección; seguramente el acuerdo más importante fué el de crear una Comisión permanente de nomenclatura, que continuará el estudio de estas cuestiones sin esperar al nuevo Congreso.

En la sección «Taxonomia de criptógamas» fueron de particular interés para los microbiólogos las sesiones celebradas conjuntamente con la sección «Micología». El Profesor Wehmeyer, de la Universidad de Michigan, leyó su trabajo «Consideraciones sobre algunos métodos para el mejoramiento del estudio taxonómico de los hongos», en el que, refiriéndose principalmente a sus estudios de los Ascomicetos, hizo resaltar la necesidad de reemplazar las descripciones fragmentarias por extensos estudios de las populaciones, antes de delimitar las especies. Los Doctores Heim y Rogers presentaron sendas comunicaciones acerca de la filogenia de los Basidiomicetos, analizando el valor relativo de ciertos caracteres considerados hasta ahora como fundamentales en la taxonomia del grupo. El Profesor Kühner resumió los trabajos que lleva realizando hace varios años acerca de ciertos caracteres microscópicos del micelio y de la germinación de las esporas de los Agaricales, utilizables en sistemática.

La sección «Micología» dedicó una primera sesión al «papel de las vitaminas y substancias afines en los hongos»; en ella destacó la intervención del Profesor Schopfer, que trató de «los equilibrios vitamínicos en los microorganismos», refiriéndose especialmente a la acción de la vitamina K_s sobre Phycomyces blakesleeanus, y de la neopiritiamina sobre ciertas capas de Neurospora crassa. Otra comunicación interesante se refirió a la acción morfogénica de las vitaminas sobre ciertos hongos, entre ellos Sphaerocybe concéntrica, que necesita aneurina, o al menos tiazol y pirimidina, para fructificar.

En la sesión conjunta de las secciones «Micología» y «Genética», el Profesor Stakman, de la Universidad de Minnesota, dió una conferencia acerca de la mutación e hibridación en los Ustilaginales. El Profesor Bauch expuso sus trabajos acerca de unas formas gigantes de levaduras obtenidas por él. En otra sesión se leyeron trabajos de Citología y sexualidad de los hongos, siendo especialmente discutida la comunicación del Profesor Luyet titulada «Evidencia y falta de evidencia de sexualidad en los Mixomicetos».

El Profesor Waksman leyó un trabajo acerca de «Los antibióticos y su papel en la fisiología de los microorganismos». Y en esa misma sesión se presentaron otras comunicaciones, como la del Profesor Gottlieb acerca de «La actividad de los antibióticos en el suelo», y otras referentes a los antibióticos en relación con la patología vegetal.

Hubo una sesión dedicada a micorrizas, y en ella el Profesor Melin presentó sus recientes estudios acerca de la naturaleza de las verdaderas micorrizas.

Esta misma sección de «Micología» dedicó una sesión a la micología médica.

En la sección de «Fitopatología» hubo una primera sesión dedicada a la «adaptación de los fitopatógenos a diferentes plantas huéspedes», en la que merece destacarse el trabajo de Helena de Bruyn, de Wageningen, acerca de la adaptación de Phytophthora infestans a varios híbridos de patata. En la sesión dedicada al tema «Inmunidad y resistencia causada por reacciones de hipersensibilidad» se presentaron trabajos relacionados con el parasitismo de Phytophthora infestants, y de Ustilago tritici. En esta misma sesión leyó el Profesor Viennot-Bourgin una comunicación acerca de ciertas modalidades del parasitismo de los Ustilaginales.

Entre las comunicaciones presentadas acerca del tema «Problemas de la resistencia desde el punto de vista genético y fitopatológico» merecen destacarse las de los Profesores Stakman y Keitt. El primero, Presidente de la sesión, trató de la variación en los hongos fitopatógenos y su importancia práctica. Con numerosos ejemplos expuso las distintas modalidades de variación en los hongos, refiriéndose especialmente a las royas y carbones; resumió los estudios realizados en la Universidad de Minnesota acerca de las razas fisiológicas de las royas y de las modificaciones anuales de su población, insistiendo en los problemas que la aparición de nuevas razas plantea en los trabajos de selección de variedades resistentes. El Profesor Keitt trató de los estudios que acerca de la herencia y patogenicidad de Ventura inaequalis viene realizando hace años.

Los temas relacionados con los virus fueron tratados en dos sesiones.

Entre los trabajos referentes a la lucha contra los agentes fitopatógenos figura el del Profesor Gassner, quien expuso sus últimas investigaciones acerca de la lucha contra los carbones del trigo y de la cebada.

A continuación reproducimos una lista de trabajos escogidos entre los presentados con tema microbiológico, y que nos ha sido facilitada amablemente por el Profesor Bustinza:

Alen, O. N.: «Producción de raicillas a partir de los nódulos de ciertas plantas leguminosas leñosas».

Brian, P. W. y Wrigth, J. M.: «Un producto metabólico fungicida y fitotóxico, producido por el hongo fitopatógeno Alternaria Solani».

Brian, P. W..; Curtis, P. J., y Jefferys, E. G.: «Antibióticos producidos por hongos aislados de los suelos pobres de brezal».

Brown, J. G. «Antibióticos en relación con algunas enfermedades bacterianas de las plantas».

Emmons, Ch. W.: «La presencia natural en los animales y suelo de los hongos que causan enfermedades en el hombre».

Grossbard, Erna: «La producción de sustancias antibióticas en el suelo».

Jefferys, E. G.: «Antibióticos en la ecología del suelo».

Nicholas, D. J. D.: «El empleo de Aspergillius Niger (Estirpe M de Mulder) para la determinación de alimentos minerales en suelos y plantas».

Norden, A.: «Estudios de la velocidad de floculación a diferentes temperaturas en una reacción de precipitinas empleando Sporotrichum Schenkii como antígeno y suero de conejo anti-sporotrichum».

Pramer, D., y Starkey, Robert L.: «La estreptomicina en el suelo».

Sobels, Johanna: «Cultivos y propiedades antibióticas de los mixomicetos».

Tamiya, H.: «Algunas aportaciones recientes al problema del modo de acción de las sustancias antibacterianas».

Virtanen, A. I.: «Problemas microbiológicos».

Durante los días del Congreso se hicieron algunas excursiones. La de Uppsala tenía como principal objeto todo lo referente a Linneo; allí se pudo ver su casa y su jardín botánico. Pero también para los microbiólogos fué interesante la visita a diferentes laboratorios dependientes de la Universidad, donde pudieron apreciar los trabajos que se llevan a cabo con cultivos de bacterias de las nudosidades de las leguminosas con fines de aplicación a la agricultura. No menos interesantes fueron las demostraciones de cultivos de hongos, así como de algas verdes.

La excursión a la isla de Huvudskär fué especialmente organizada para algólogos y liquenólogos, pero también los micólogos tuvimos ocasión de recoger algunas especies típicas de esa región.

M. Jordán de Urríes.

EN MEMORIA DE DON JUAN MARCILLA

El pasado día 14 de diciembre celebró la Sociedad, en el edificio Central del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, sesión especial dedicada a la memoria del que fué su primer y querido Presidente, don Juan Marcilla Arrazola (q. e. p. d.). El Vicepresidente, don Gerardo Clavero del Campo, abrió la sesión, dedicando unas frases de sentido elogio para la figura del que fué en vida maestro de jóvenes generaciones de microbiólogos. Seguidamente, don Enrique Feduchy, en nombre de los discípulos, leyó la biografía que recogemos en estas páginas, y, por último, don Luis Hidalgo dió lectura al trabajo de Marcilla (†), Feduchy, Garrido e Hidalgo: «Condiciones óptimas de proliferación de la Torulopsis utilis (variedad magna de Thaysen) sobre prehidrolizados de carozos de maíz», que se recoge también en este número.

ELECCIONES PARA CARGOS DIRECTIVOS

Conforme a preceptos reglamentarios, corresponde renovar en su mitad la Junta directiva para el año próximo. En la última reunión de la Junta actual, celebrada en el mes de diciembre, se ha acordado efectuar dicha elección, mediante votación por papeleta secreta, como marca el artículo 35 del Reglamento.

El escrutinio de las papeletas recibidas en Secretaría se verificará en la primera reunión que se celebre el próximo mes de febrero.

NOMBRAMIENTO

Vacante, por fallecimiento de don Juan Marcilla, la Dirección del Instituto de Microbiología General y Aplicada del C. S. I. C., ha sido designado para ocupar dicho cargo el Catedrático de Bacteriología de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Madrid, Prof. Dr. Arnaldo Socías Amorós, Vocal de la Sociedad de Microbiólogos Españoles.

NUEVA DENOMINACION

Por acuerdo del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, el Instituto de Microbiología General y Aplicada del C. S. I. C. ha cambiado su nombre por el de Instituto «Jaime Ferrán», de Microbiología, como homenaje a la figura señera del que fué gran bacteriólogo español.

ACTAS DE LA SOCIEDAD

MADRID

ACTA DE LA SESION CELEBRADA EL DIA 9 DE MAYO DE 1950

Bajo la presidencia de don Juan Marcilla, y actuando como secretario don Luis Hidalgo, se abre la sesión a las veinte treinta, en el local del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, sito en Medinaceli, 4.

Se aprueba el Acta de la Sesión anterior. Don Román Vicente da lectura a una comunicación del señor Préstamo sobre «Ensayo microbiológico de la vitamina B_{12} con el L. Leichmannii. Influencia del pH y temperatura en su estabilidad».

A continuación, don Luis Hidalgo da lectura a la comunicación «Posibilidad de fabricar levaduras prensadas sobre prehidrolizados de residuos agrícolas», de la que son autores don Juan Marcilla Arrazola y don Luis Hidalgo Fernández-Cano.

El señor Presidente elogia la comunicación del señor Préstamo y da cuenta de haber recibido la invitación para asistir al V Congreso Internacional de Microbiología, de Río de Janeiro y, asimismo, de un telegrama con la oferta de tres pasajes de avión, ida y vuelta, para dicho Congreso a favor de la Sociedad de Microbiólogos Españoles. Lo que se acuerda comunicar a los socios, rogándoles indiquen los trabajos que pueden presentar dentro de la fecha marcada y conforme a las normas establecidas, ya dadas a conocer en las páginas de MICROBIOLOGIA ESPAÑOLA.

Son admitidos como socios: don Francisco Maldonado, presentado por don Ricardo Salaya y don Lorenzo Vilas; don Gregorio Fraile y don Miguel Rubio, presentados ambos por don Lorenzo Vilas y don Román Vicente.

A propuesta de la presidencia es aprobado por unanimidad el nombramiento de Socio de Honor del ilustre bacteriólogo italiano Profesor Giuseppe Penso.

Y no habiendo más asuntos que tratar, se levanta la sesión a las veintiuna treinta horas.

BIBLIOGRAFIA

HAUDUROY (P.) et CHAIN (E.), FLOREY (H.), JENSEN (K. A.), PENSO (G.), TREFOUEL (J.) et WELLS.—1950. Bacilles tuberculeux et paratuberculex. Masson & Cie. París. 186 págs.

La excelente idea del Prof. Hauduroy de reunir en Laussane a destacados investigadores del bacilo tuberculoso, para que expusieran las orientaciones y situación de sus trabajos, discutiendo públicamente tan apasionante tema, con los argumentos que pudiera prestarles la enorme experiencia lograda con su larga dedicación y reconocida competencia (hay dos Premios Nóbel entre los autores), ha permitido la aparición de este libro, en donde se han recogido las conferencias pronunciadas. Los títulos de las mismas son: E. Chain, «Actividad biológica de las sustancias extraídas del bacilo tuberculoso»; Sir H. Florey, «Antibióticos activos contra el bacilo tuberculoso»; P. Hauduroy, «La ácido-alcohol-resistencia de los bacilos tuberculosos y paratuberculosos»; K. A. Jensen, «Los tipos humano y bovino del bacilo tuberculoso»; G. Penso, «Los bacilos paratuberculosos»; J. Trefouel, «Agentes quimioterápicos activos contra el bacilo tuberculoso»; Wells, «Tipo murino del bacilo tuberculoso».

No hay necesidad de comentar el acierto de estos trabajos, pues las firmas de sus autores son la mayor garantía del interés que el lector va poniendo en la lectura, a medida que va adelantando en ella. La revisión de la técnica para clasificar los hasta ahora llamados «paratuberculosos» hecha por Penso, es, tal vez, el punto que más llama la atención por su novedad.

De desear sería que se multiplicasen las reuniones de este tipo, tomando ejemplo de la que, con tanto acierto, organizó el ilustre Profesor Hauduroy.—**L. Vilas.**

KEYSER (J. W.).—1950. Chemistry and Therapeutics of Synthetic Drugs. G. Newnes, Ltd. London. VIII + 462 pp.

Esta obra no pretende ser un tratado agotador del tema, pero tampoco se deja cosas fundamentales sin tocar, ordenándolas según un criterio de aplicación que facilita su manejo y, sobre todo, la iniciación a la bibliografía moderna acerca de cada materia. Los capítulos VI, VII, VIII y IX interesan especialmente a la Microbiología, estando dedicados a los productos antibacterianos, tripanocidas

y antimaláricos; los XIII, XIV y XV interesan a todos porque están dedicados al estudio general de las relaciones entre la estructura química y la acción fisiológica, a los cambios químicos de las drogas en el cuerpo y a los temas acerca de la acción de las drogas sintéticas.

Es un buen libro de referencia para las dudas suscitadas por el amplio vocabulario anejo al extenso campo de los quimioterápicos sintéticos, para lo que va dotado de un apéndice compuesto por la lista de los nombres comerciales que se usan corrientemente en Inglaterra.—**L. Vilas.**

INDICE DE ARTICULOS DE REVISTAS

Bajo este epígrafe se efectúa la publicación sistemática, por orden cronológico, de los títulos de los trabajos que han aparecido en los últimos años en las principales revistas microbiológicas. Ello permite una fácil orientación dentro del panorama internacional de la especialidad.

En este número se recogen los títulos correspondientes a los años 1940-1942 de **Annales de L'Institut Pasteur** (Biblioteca del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.—I. E.).

Mediante convenio con el Servicio de Microfilm del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, la Sociedad puede facilitar a los señores socios reproducciones de los artículos que deseen, para lo cual bastará escribir al Secretario de la Sociedad, Serrano, 113, Madrid, precisando el número en negrita que encabeza el artículo cuya copia se solicita.

Los precios y condiciones se detallan al final de esta Sección.

1.663

WOLLMAN (E.) et LACASSAGNE (A.).—1940. Recherches sur le phénoméne de Twort-D'Hérelle. **Annales de L' Institut Pasteur.** 64: 5-39. I. E.

1.664

REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1940. Sur la présence des virus rabique et pseudo-rabique dans les membranes et milieux de l'œil. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 40-46. I. E.

1.665

METALNIKOV (S.) et YAKIMACH (A.).—1940. Action du rayonnement radioactif sur la multiplication et sur la structure des microorganismes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 47-54. I. E.

1.666

JACOTOT (H.).— 1940. Etude sur la sérothérapie préventive et curative de la pasteurellose des bœufs et des buffles. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 55-72. I. E.

1.667

DEINSE (F.) et SOLOMIDES (J.).—1940. Recherches sur les effets toxiques des bacilles tuberculeus bovins morts sur l'organisme du lapin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 73-86. I. E.

1.668
BERTRAND Gabriel et SILBERSTEIN (Lazare).—1940. Sur les variations de la teneur en bore des feuilles avec l'age. **Annales de L'Institut Pasteur** 64: 87-89. I. E.

1.669
BERTRAND (Didier).—1940. Contribution a l'étude de la diffusion du molybdene chez les végétaux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 90-96. I. E.

1.670
HORNUS (Georges J. P.).—1940. Psittacose pulmonaire expérimentale de la souris blanche. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 97-116. I. E.

1.671
PREVOT (A. R.).—1940. Etudes de systématique bactérienne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 117-125. I. E.

1.672
AUDUREAU (Alice).—1940. Etude du genre Moraxella. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 126-166. I. E.

1.673
MEYER (Kurt) et FROYEZ-ROEDERER.—1940. La fréquence des infections a bacilles bovins dans la tuberculose ostéo-articulaire et ganglionnaire **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 167-172. I. E.

1.674
CRUVEILHIER (Louis).—1940. Jules Viala (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 173-174. I. E.

1.675
LEPINE (P.), SOHIER (R.) et SAUTIER (V.).—1940. Essais de transmission du virus des oreillons. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 175-188. I E.

1.676
NEGRE (L.) et BRETEY (J.).—1940. Sur la vaccination antituberculeuse du cobaye au moyen du BCG introduit par des piqures cutanées multiples ou par des scarifications de la peau. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 189-195 I. E.

1.677
STRENG (K. O.).—1940. Etude des caractéres d'atténuation du bacille BCG suivant le nombre de passages de ce germe sur pomme de terre a la bile de bœuf. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 196-202 I. E.

1.678
RIST (N.), BLOCH (F.) et HAMON (V.).—1940. Action inhibitrice du sulfamide et d'une sulfone su la multiplication in vitro et in vivo du bacille tuberculeux aviaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 203-237. I. E.

1.679
KIRCHHEINER (E.).—1940. Recherches biochimiques et immunologiques comparées sur spherophorus necrophorus et spherophorus funduliformis. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 238-254. I. E.

1.680
GHELELOVITCH (S.).—1940. Una mutant bactérien instable obtenu expérimentalement. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 255-263. I. E.

1.681
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1940. Sur le teneur en bore de feuilles dans le maladie du cœur de la betterave et d'autres plantes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 264-268. I. E.

1.682
1940. Alexandre Besredka (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 269-274. I. E.

1.683
GRABAR (Pierre), LEVENSON (Serge) et SCHNEIERSON (S. Stanley).—1940. Etude expérimentale des toxines du B. perfringens types A et C au moyen de l'ultrafiltration fractionnée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 275-292. I. E.

1.684
BOQUET (Alfred) et LENCI (Egidio).—1940. Recherches sur la teneur des produits tuberculeux en bacilles de Koch. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 293-300. I. E.

1.685
SCHAEFER (W.).—1940. Sur la séparation des anticorps lipoïdiques polysaccharidiques et protéidiques des sérums tuberculeux au moyen de la réaction de l'inhibition spécifique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 301-315. I. E.

1.686
LEVY-BRUHL (M.) et COURTOIS (Jeanne).—1940. Recherches immunologiques sur les bacilles muqueux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 316-319. I E.

1.687
DUSI (Hisatake).—1940. Culture bactériologiquement pure et nutrition autotrophe d'Eudorina elegans Ehrbg (volvocidée). Role du fer pour la formation des colonies. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 340-343. I. E.

1.688
BERTRAND (Gabriel) et VLADESCO (Radu).—1940. Sur la glycémie du cobaye et du lapin sous l'influence du venin de cobra. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 344-348. I. E.

1.689
BROOKS (Georges) et PAULAIS (Robert).—1940. Recherches sur la répartition et la localisation des caroténoïdes, des flavines et de l'acide-l-ascorbique chez les mollusques lamellibranches. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 349-356. I. E.

1.690
BOQUET (A.).—1940. Giuseppe Sanarelli. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64. 357-358. I. E.

1.691
LEVADITI (C.), en collaboration avec REINIE (L.), STAMATIN (Mme.), LE-VANSEN (†) et BEQUIGNON (R.).—1940. Utravirus et fluorescence. Le virus vaccinal (premier mémoire). **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 359-414. I. E.

1.692
LURIA (Salvatorre).—1940. Méthodes statistiques appliqées a l'étude du mode d'action des ultravirus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 415-438. I. E.

1.693
MANOUELIAN (Y.).—1940. Etude morphologique du Spirochaeta pallida. Modes de division. Spirochétogène Syphilitique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 439- 455. I. E.

1.694
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1940. Sur la repartition du bore dans les organes du tabac des paysans. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 456-460. I. E.

1.695
1940. Michel Weinberg (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 461-465. I. E.

1.696
LEVADITI (C), en collaboration avec REINIE (L.), STAMATIN (Mme.), LE-VANSEN (†), BEQUIGNON (R.) et LOMINSKI (I.).—1940. Ultravirus et fluorescence. Le virus vaccinal (deuxième mémoire). **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 466-516. I. E.

1.697
SCHAEFER (W.).—1940. Recherches sur la spécificité des protéides des bacilles tuberculeux. Identification sérologique des souches bovines et sérodiagnostic de la tuberculose bovine chez l'homme. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 517-541. I. E.

1.698
LEVI (M. L.).—1940. Contribution a l'étude des conjonctivites rickettsiennes des petits rumiants. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 542-557. I. E.

1.699
BROOKS (Georges).—1940. Sur l'etude chimique et spectrographique de la fluorescence des venins de serpents. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 558-564. I. E.

1.700
CRUVEILHIER (L.) et VIALA (Ch.).—1940. Les vaccinations antirabiques a L'Institut Pasteur en 1939. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 565-570. I. E.

1.701
BERTRAND (Gabriel) et VLADESCO (Radu).—1940. Sur l'action hyperglycémiante des venins de serpents. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 5-12. I. E.

1.702
SAENZ (A.) et CANETTI (G.).—1940. Les propriétés pathogénes des bacilles tuberculeux morts, enrobés dans l'huile de vaseline et injectés par voie testiculaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 13-49. I. E.

1.703
SOHIER (R.), LEPINE (P.) et SAUTTER (V.).—1940. Recherches sur la transmission expérimentale de la mononucléose infectieuse au singe et a l'homme. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 50-62. I. E.

1.704

DUJARRIC DE LA RIVIERE (R.) et KOSSOVITCH (N.).—1940. Propriétés des immunsérums obtenus par l'inoculation aux animaux de sérums sanguins ayant subi l'action de certains agents physiques. (Reaction seroseriques.) **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 63-66. I. E.

1.705

BLOCH (Françoise) et DUCOURTIOUX (Marcel).—1940. Le controle histobactériologique des tuberculoses cutanées (deuxiéme memoire). **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 67-107. I. E.

1.706

FRIEDHEIM (Ernst A. H.)—1940. L'acide triazine-arsinique dans le traitement de la maladie du sommeil. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 108-118. I. E.

1.707

BERTRAND (Gabriel).—1940. Sur la présence, actuellement constatée, du magnésium dans les grains de pollen. **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 119-129. I. E.

1.708

REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1940. La dessiccation n'atténue pas le virus rabique elle le conserve. (Premier memoire.) **Annales de L'Institut Pasteur.** 64: 130-145. I. E.

1.709

PELTIER (M.), DURIEUX (C.), JONCHERE (H.) et ARQUIE (E.).—1940. Vaccination mixte contre la fiévre jaune et la variole sur des populations indigénes du Sénégal. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 146-169. I. E.

1.710

VELLARD (J.).—1940. Modifications sanguines provoquées par les venins. (Quatrième Mèmoire.) Action hémolytique et variations de la résistence globulaire *in vivo*. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 170-197. I. E.

1.711

SERGENT (Edm), DONATIEN (A.), PARROT (L.) et LESTOQUARD (F.).—1940. Sept années de prémunition contre les piroplasmoses (*lato sensu*) du bœuf 10e-16e campagnes (1933-1939) **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 199-203. I. E.

1.712

LE ROUX (G.).—1940. Essai sur la propriété immunigéne du virus de la peste bovine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 204-236. I. E.

1.713

DELBOVE (P.) et REYNES (V.).—1940. Données bactériologiques et sérologiques sur les fiévres typhoïdes en Conchinchine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 237-250. I. E.

1.714

HIRSZFELD (L.) et AMZEL (R.).—1940. Sur les pléiades «isozériques» du sang. (Première Mémoire.) Contribution a l'étude des sous-groupes sanguins. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 251-278. I. E.

1.715

1940. Georges J. P. Hornus (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 279-281. I. E.

1.716

LAPORTE (R.).—1940. Contribution a l'etude des bacilles paratuberculeux. I. Propriétés pathogènes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 282-325. I. E.

1.717

FORGEOT (P.), HALBRON (P.) et **LEVV-BRUHL (M.).**—1940. Pyobacillose généralisée mortelle chez un berger. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 326-335. I. E.

1.718

SCHOEN (R.).—1940. La pneumopathie lymphogranulomateuse expérimentale des souris blanches. Transmission de l'infection par voie nasale **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 336-355. I. E.

1.719

MILLET (M.) et **VAN EYCK (M.).**—1940. Etude sur les bactériémies aprés ablation des amygdales et des végétations adénoïdes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 356-369. I. E.

1.720

TROISIER (Jean), KOLOCHINE-ERBER (B.) et **SIFFERLEN (J.).**—1940. Une épizootie de leptospirose ictérique dans un chenil. Identification sérologique de l'agent pathogéne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 371-385. I. E.

1.721

HIRSZFELD (L.) et **AMZEL.**—1940. Etude sur les pléiades isozériques du sang. (Deuxième Mémoire.) Sur l'hérédité des pléiades. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 386-414. I. E.

1.722

LAPORTE (R.).—1940. Contribution a l'etude des bacilles paratuberculeux. II. Histo-cytologie des lésions paratuberculeuses. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 415-434. I. E.

1.723

CANETTI (G.) et **LACAZE (H.).**—1940. Données nouvelles sur l'evolution et la signification de l'allergie tuberculinique (Premier Mémoire). Les grandes tendances évolutives de l'allergie tuberculinique chez les sujets non tuberculeux. Allergie et réinfection. **Annales de L'Institut Pasteur.** 65: 435-468. I. E.

1.724

ARMAND-DELILLE (P. F.) et **GYSIN (O.).**—1941. Etude des propriétés pathogénes et vaccinantes de bacilles acido-résistants de type S (lisse) isolés du sang au cours de l'infection tuberculeuse évotutive chez de jeunes sujets. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 5-25. I. E.

1.725

NEGRE (L.) et **BRETEY (J.).**—1941. Sur l'apparition précoce de l'allergie et de la résistance antituberculeuse chez les animaux vaccinés par le BCG au moyen de scarifications cutanées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 26-31. I. E.

1.726
BOQUET (Alfred).—1941. L'hypersensibilité a la tuberculine et la résistance aux surinfections virulentes produites par la bacille tuberculeux atténué R^1. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 32-56. I. E.

1.727
POCHON (J.).—1941. Métabolisme et évolution des bacteries cellulolytiques anaérobies libres et parasites. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 57-77. I. E.

1.728
SENTHILLE (F.).—1941. Recherches sur le type respiratoire de l'espéce Corynebacterium Pyogenes. (Var. C. bovis. B de Poels, et var. C. suis, B. de Grips). **Anales de L'Institut Pasteur.** 66: 78-82. I. E.

1.729
MANOUELIAN (Y.).—1941. Variations dans l'argyrophilie des spirochétes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 82-89. I. E.

1.730
SAZERAC (R.) et POUZERGUES (J.).—1941. Recherche du bismuth dans les cellules et les tissus animaux. Formation de cristaux caractéristiques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 90-95. I. E.

1.731
WINOGRADSKY (S.).—1941. Etudes sur la microbiologie du sol (Dixiéme Mémoire). Sur la synthése enzymatique de l'ammoniac dans le sol et les eaux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 97-128. I. E.

1.732
COTONI (L.) et BOQUET (P.).—1941. Recherches sur l'immunite conférée par le pneumocoque III. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 129-135. I. E.

1.733
HORNUS (Georges J. P.) et GRABAR (Pierre).—1941. Relations quantitatives entre l'antigéne glucido-lipidique o et le hapténe glaucidique du bacille typhique et les immunsérums de lapin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 136-158. I. E.

1.734
DUSI (Hisatake).—1941. La culture et le pouvoir de synthése d'Euglena anabœnia var. minor Mainx. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 159-168. I. E.

1.735
CHORINE (V.).—1941. Dosage des chlorures sanguins. Influence des citrates sur la répartition du chlore entre les globules et le plasma. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 169-180. I. E.

1.736
LACASSAGNE (A.).—1941. Cl. Regaud (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 181-186. I. E.

1.737
GRYSEZ (Victor).—1941. Observations sur les causes modificatrices de l'évolution de la rage chez les lapins inoculés avec le virus fixe. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 187-190. I. E.

1.738

DEINSE (F. van).—1941. Modifications de la virulence du bacille tuberculeux bovin au cours des réensemencements successifs sur pomme de terre biliée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 191-203. I. E.

1.739

GUILLAUMIE (Maylis).—1941. Détermination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibrion septique, anti-histolytique et anti-œdematiens. Préparation, titrage et propiétés des toxines correspondantes. (Premier Mémoire.) Contribution a l'etude de la toxine du Bac. Perfringens A. **Annales de l'Institut Pasteur.** 66: 204-247. I. E.

1.740

MAGROU (J.).—1941. Remarques sur la biologie de la pomme de terre. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 249-283. I. E.

1.741

LAPORTE (R.).—1941. Contribution a l'etude des bacilles paratuberculeux. III. Propriétés toxiques et sensibilisantes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 284-319. I. E.

1.742

BABLET (J.).—1941. La recherche du test de protection de la souris et l'examen histologique du foie envisagés comme indicateurs dans l'épidémiologie de la fiévre jaune. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 320-328. I. E.

1.743

GUILLAUMIE (Maylis).—1941. Determination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibrion septique, anti-histolyque et anti-œdematiens préparation, titrage et propriétés des toxines correspondantes (Deuxième Mémoire). Contribution a l'etude de la toxine du B. perfringens A. Toxinogenése dans différents milieux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 329-378. I. E.

1.744

BOQUET (Paul).—1941. Role du cuivre en quantités infinitésimales dans l'atténuation des venins de Vipera avis et de Naja tripudians et d'une toxine végétale, la ricine, par le peroxyde d'hydrogéne. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 379-396. I. E.

1.745

BABLET (J.).—1941. Note sur l'histoplasmose de Darling. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 397-403. I. E.

1.746

BRIDE (J.).—1941. Félix Lestoquard (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 405-406. I. E.

1.747

LWOFF (André).—1941. Limites de concentration en ions H et OH compatibles avec le développement in vitro du flagellé Polytomella Cæca. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 407-416. I. E.

1.748

LWOFF (André) et AUDUREAU (Alice).—1941. La nutrition carbonée de Moraxella lwoffi. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 417-424 I. E.

1.749
DURAND (Paul) et GIROUD (Paul).—1941. Le lapin inoculé par voie respiratoire avec les rickettsies du typhus historique. Pouvoir antigéne des suspensions. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 425-437. I. E.

1.750
DEINSE (F. van) et SOLOMIDES (J.).—1941. Dosages d'urée dans la sang de lapins au cours de la tuberculose expérimentale. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 438-452. I. E.

1.751
BRETEY (J.).—1941. Remarques sur le role joué par le régime alimentaire et par la vitamine C dans la tuberculose expérimentale du cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 453-472. I. E.

1.752
PRUDHOMME (R. O.).—1941. Contribution a l'étude de quelques composés gras des bacilles acido-résistentans. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 473-482. I. E.

1.753
CRUVEILHIER (L.) et VIALA (Ch.).—1941. Les vaccinations antirabiques a L'Institut Pasteur en 1940. **Annales de L'Institut Pasteur.** 66: 483-488. I. E.

1.754
POZERSKI (E.).—1941. Giovanni Malfitano (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 5-8. I. E.

1.755
LWOFF (A.), NITTI (F.), TREFOUEL (J.) et HAMON (V.).—1941. Recherches sur le sulfamide et les antisulfamides. I. Action du sulfamide sur la flagellé Polytomella caeca. II. Action antisulfamide de l'acide p-amino-benzoïque en fonction du pH. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 9-36. I. E.

1.756
SEGUIN (P.) et VINZENT (R.).—1941. Les spirochétes commensaux de l'homme. Deuxième Mémoire.) **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 37-86. I. E.

1.757
PREVOT (A. R.).—1941. Etudes de systématique bactérienne. VI. Critique de la famille des Lactobacteriaceæ. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 87-93. I. E.

1.758
LWOFF (A.) et AUDUREAU (Alice).—1941. Sur une mutation de Moraxella lwoffi apte a se développer dans les milieux a l'acide succinique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 94-111. I. E.

1.759
GUILLAUMIE (Maylis).—1941. Determination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibrion septique, anti-histolytique et anti-œdematiens. Préparation, titrage et propriétés des toxines correspondantes (Troisième Mémoire). Toxine et antitoxine du vibrion septique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 113-153. I. E.

1.760
BERTRAND (Gabriel) et SILBERSTEIN (Lazare).—1941. Recherches sur la répartition du bore dans les espéces végétales. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 154-160. I. E.

1.761
NEGRE (L.) et BRETEY (J.).—1941. Vaccination par le BCG au moyen de scarifications cutanées. (Troisième Mémoire.) **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 161-172. I. E.

1.762
LWOFF (A.), NITTI (F.) et TREFOUEL (J.).—1941. Recherches sur le sulfamide et les antisulfamides. III. Action du sulfamide sur le développement d'*Escherichia coli* et de *Proteus vulgaris* X19. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 173-185. I. E.

1.763
REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1941. Il n'est pas possible de tirer passages par la souris un caractère différentiel entre le virus rabique fixe et le virus de rue. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 186-188. I. E.

1.764
VAUCEL (M.).—1941. Etat de la maladie du sommeil au Cameroun en 1939. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 189-215. I. E.

1.765
BERTRAND (Gabriel).—1941. Les infiniment petits chimiques minéraux et les phénomènes de la vie. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 216-227. I. E.

1.766
LWOFF (André) et DUSI (Histake).—1941. Recherches sur la nutrition des flagellés. I. *Polytoma uvella* et *Polytoma obtusum*: Necessité du fer, nutrition azotée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 229-239. I. E.

1.767
MATTI (Jean), NITTI (Frédéric), MOREL (Madeleine) et LWOFF (André).—1941. L'action de la pyridine B-sulfamide considérée en raison de son analogie de constitution avec la nicotinamide. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 240-243. I. E.

1.768
PREVOT (A-R.), et LOTH (R.).—1941. Recherches biochimiques sur *Clostridium fallax* (W. et S.) et *Clostridium pseudo-fallax* nov. spec. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 244-247. I. E.

1.769
TABONE (J.).—1941. Etude des radicaux acétyles liés aux protéides sériques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 248-283. I. E.

1.770
MOREL (Madeleine).—1941. L'usure de la nicotinamide chez *Proteus vulgaris*. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 285-298. I. E.

1.771
ROCHER (H.) et CHOUTEAU (J.).—1941. Recherches quantitatives sur la reaction de Wassermann et ses antigénes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 299-313. I. E.

1.772
TABONE (J.).—1941 Etude des radicaux acétyles liés aux protéides sériques. (Deuxième Mémoire). **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 314-353. I. E.

1.773
RAMON (G.), BOQUET (P.), RICHOU (R.) et NICOL (L.).—1941. Les anavenins spécifiques et les substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité dans la production des sérums antivenimeux respectivement dirigés contre les venins de Cerastes-cornutus et de Naja-haje. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 355-358. I. E.

1.774
ROUBAUD (E.) et PROVOST (A.).—1941. Infection du cobaye par le trypanosome des ruminants des antilles Trypanosoma viennei souche américaine de Tr. cazalboui (vivax). **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 359-360 I. E.

1.775
BERAUD (P.).—1941. Variabilité et sélection dans l'accoutumance de certaines levures a l'arsenic. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 361-362. I. E.

1.776
BERAUD (P.).—1941. Variabilité et accountumance causes d'indétermination dans l'etude des facteurs de croissance des levures. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 363-364.

1.777
GIRARD (G.).—1941. Caractéres essentieles des souches de bacilles pesteux susceptibles d'être utilement employés comme vaccins vivants. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 365-367. I. E.

1.778
VERGE (J.) et GORET (P.).—1941. Sur la conservation de quelques ultravirus par la dessiccation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 367-370. I. E.

1.779
LEPINE (P.) et SAUTTER (V.).—1941. Conservation des virus par la congélation et par la dessiccation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 371-373. I. E.

1.780
WINOGRADSKY (Héléne).—1941. L'Usage du gel silicique en microbiologie. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 374-376. I. E.

1.781
BOIVIN (André).—1941. Sur le déterminisme de la virulence chez les bactéries. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 377-379. I. E.

1.782
LEPINE (P.).—1941. Dispositif simple d'ultracentrifugation sans systéme d'observation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 380-382. I. E.

1.783
PONS (R.).—1941. Mode d'action du formol sur les anticorps cas particulier du sérum antitétanique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 383-387. I. E.

1.784
GUILLAUMIE (Maylis).—1941. Détermination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens A, anti-vibrion septique, anti-histolytique et anti-œdematiens. Préparation, titrage et propriétés des toxines correspondantes. (Quatrième Mémoire). Etudes sur la toxine du Bacillus histolyticus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 389-418. I. E.

1.785
PRUDHOMME (R.-O.).—1941. Spectres d'absorption dans l'ultra-violet du sérum normal humain et du sérum paludéen. Spectrs d'absorption dans l'ultra-violet des différentes fractions protéidiques du sérum. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 419-448. I. E.

1.786
MOREL (Madeleine).—1941. Sur le développement de Proteus vulgaris en anaérobiose. I. Les nitrates accepteurs d'hydrogène. II. Le groupement-sh facteur de départ. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 449-456. I. E.

1.787
ROUBAUD (E.), CHORINE (V.) et GUIRAUD (P.).—1941. Epreuves négatives de transmission par l'anophéle d'une souche ancienne de paludisme d'inoculation (Plasmodium vivax). **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 462-465. I. E.

1.788
REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1941. Influence de l'anesthésie sur la transmission de la rage par voie pulmonaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 465-466. I. E.

1.789
DESCHIENS (R.).—1941. Nouvelles données sur la relation existant entre l'enkystement et la conservation du pouvoir pathogéne des amibes dysentériques, en culture. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 468-470. I. E.

1.790
PREVOT (A.-R.).—1941. Etude sur la longevité des bactéries anaérobies non sporulées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 471-473. I. E.

1.791
PREVOT (A.-R.) et CORDIER (P.).—1941. Recherches biochimiques comparées sur Cl. bifermentans Cl. sordellii et Cl. aerofoetidum. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 473-476. I. E.

1.792
LEPINE (P.), LEVADITI (Jean C.) et GIUNTINI (J.).—1941. Determination de la taille du virus vaccinal par l'ultracentrifugation et le microscope a fluorescence. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 477-480. I. E.

1.793
LEPINE (P.), LEVADITI (Jean C.) et GIUNTINI (J.).—1941. Etude du virus de la lymphogranulomatose inguinale (maladie de Nicolas et Favre) au moyen de l'ultracentrifugation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 67: 480-482. I. E.

1.794
BOQUET (Alfred) et GROLIER (A.).—1942. Essais d'atténuation de bacilles tuberculeux par culture sur pomme de terre biliée. **Annales de L'Institut Pasteur:** 68: 5-30. I. E.

1.795
RENAUX (Ernest) et THOMAS (Jacques).—1942. L'antigéne hétérogénétique (antigéne de Forssman) du cœur de cheval. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 31-50. I. E.

1.796
BERTRAND (Gabriel) et VLADESCO (Radu).—1942. Sur la variation cyclique annuelle de toxicité du sang de la vipére. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 51-57. I. E.

1.797
BERTRAND (Didier).—1942. Recherches sur le vanadium chez les vegetaux **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 58-68. I. E.

1.798
KOSSOVITCH (N.) et CANAT (J.)—1942. Microméthode simple pour l'etude du pouvoir phagocytaire des leucocytes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 69-71. I. E.

1.799
DELAUNAY (Albert).—1942. Recherche des constituants bactériens responsables de l'appel leucocytaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 72-74. I. E.

1.800
GRABAR (P.) et DERVICHIAN (D.).—1942. Rapports quantitatifs entre antigénes et anticorps dans les précipitations spécifiques en relation avec la structure moléculaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 74-79. I. E.

1.801
MATHIS (Maurice).—1942. Sur un nouveau procédé de dépistage de la loque américaine des abeilles. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 79-81. I. E.

1.802
POCHON (J.).—1942. Recherches sur les enzymes protéolytiques du pneumocoque. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 81-83. I. E.

1.803
GUILLAUMIE (Maylis).—1942. Quelques observations sur les propriétés hémolytiques des toxines Perfringens et histolytique action de différents sérums et du sulfamide sur ces toxines. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 84-89. I. E.

1.804
PONS (R.).—1942. Sur une propriété curieuse des mélanges toxine-anatoxine diphtériques. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 90-92. I. E.

1.805
COTONI (L.).—1942. A propos des bactéries dénommées Listerella rappel d'une observation anciene de méningite chez l'homme. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 92-95. I. E.

1.806
GIROUD (Paul) et PANTHIER (René).—1942. Comportement du cobaye a l'inoculation de doses massives de rickettsies du typhus historiques issues de poumon de souris ou de lapin. **Anales de L'Institut Pasteur.** 68: 95-98. I. E.

1.807
MARCHOUX (E.), CHORINE (V.), CHABAUD (A.) et TISSEUIL (J.).—1942. Essais négatifs de la transmission de la lépre humaine au hamster de Syrie, Cricetus auratus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 99-105. I. E.

1.808
CHABAUD (A.).—1942. Alatération du bacille de Hansen par les fixateurs. Role protecteur de l'acide phénique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 106-113. I. E.

1.809
VERGE (J.) et SENTHILLE (F.).—1942. Recherches sur la fréquence des differents types de bacilles tuberculeux dans l'infection spontanée du chat. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 114-117. I. E.

1.810
LEVADITI (C.).—1942. Variations de l'activité pathogéne du Treponema pallidum d'origine humaine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 118-136. I. E.

1.811
GIROUD (Paul) et PANTHIER (René).—1942. Adaptation directe au poumon de souris d'une souche de typhus historique isolée et conservée sur cobaye comportement des rickettsies au cours de cette expérimentation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 137-152. I. E.

1.812
REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1942. Action de la dessication sur quelques ultra-virus neurotropes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 153-156 I. E.

1.813
PREVOT (A. R.) et CORDIER (P.).—1942. Acide indol-3-acétique et bactéries anaérobies. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 156-159. I. E.

1.814
URBAIN (Ach.), THIERY (J. F.) et COURTADE (R.).—1942. Sur la conservation du bacille morveaux desséché sous le vide aprés congélation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 159-161. I. E.

1.815
RAMON (Gaston), AMOUREUX (Germanine) et POCHON (Jacques).—1942. Sur la production des toxines microbiennes au moyen d'un nouveau milieu de culture a base de digestion papainique de viande. Aplication a l'obtention de la toxine diphtérique destinée a la préparation de l'anatoxine correspondante. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 162-166. I. E.

1.816
GRABAR (P.) et OUDIN (J.).—1942. Essai d'immunisation par injection d'un précipite spécifique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 166-168. I. E.

1.817
LEVADITI (Jean-C.).—1942. Bacille de Koch et ultrafiltration. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 168-173. I. E.

1.818
BERTRAND (Ivan) et BABLET (Jean).—1942. Sur l'inoculation intracérébrale de bacilles tuberculeux et para-tuberculeux chez les singes inférieurs. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 175-201. I. E.

1.819
GUILLAUMIE (Maylis).—1940. Détermination du titre antitoxique des sérums anti-perfringens, anti-vibrion septique, anti-histolytique et anti-œdematiens. Préparation, titrage et propriétes des toxines correspondantes. (Cinquiéme Mémoire.) Toxine et antitoxine du B. œdematiens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 203-225. I. E.

1.820
BERTRAND (Didier).—1942. Le vanadium comme élément oligosynergique pour l'Aspergillus niger. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 226-244. I. E.

1.821
GUELIN (A.).—1942. Action des rayons lumineux sur le bactériophage. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 245-248. I. E.

1.822
GASTINEL (P.) et FASQUELLE (R.).—1942. Du comportement respectif du dermo- et du neuro-vaccin a l'égard du systéme nerveux autonome. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 249-252. I. E.

1.823
WINOGRADSKY (Héléne).—1942. Contribution a l'étude de la libération chronique de l'amoniac par les nodules radiculaires des légumineuses. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 253-254. I. E.

1.824
LWOFF (André) et MOREL (Madeleine).—1942. L'action de la vitamine C sur la multiplication de Proteus vulgaris **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 255-258. I. E.

1.825
PREVOT (A.-R.) et TAFFANEL (J.)—1942. Recherches sur une nouvelle espéce anaérobie Ramibacterium alactolyticum (nov. spec.). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 259-262. I. E.

1.826
BONNEFOI (A.) et AUDUREAU (A.)—1942. Utilisation d'une préparation d'autolysat de levure pour la culture de certaines bactéries. **Annales de L'Institut Posteur.** 68: 263-265. I. E.

1.827
BONET-MAURY (P.)—1942 Evaluation par irradiation α de la taille des ultra virus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 265-271. I. E.

1.828

DEINSE (F. van).—1942. Action pathogéne pour le cobaye de quelques cultures de Bacilles tuberculeux bovins au cours de passages successifs sur pomme de terre biliée. Importance de la voie d'inoculation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 271-273. I. E.

1.829

LAFON (J.).—1942. Etude de la dispersion du bacille de la fléole dans l'organisme de la souris. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 274-276. I. E.

1.830

1942. Adrien Loir (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 279-280. I. E.

1.831

BLANC (Georges) et **BALTAZARD (Marcel).**—1942. Transmision de l'infection a bacille de Withmore par insects piqueurs. I. Maladie expérimentale du cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 281-293. I. E.

1.832

BESSEMANS (A.) et **DENOO (A.).**—1942. La physicopyrexie et la curabilité biologique de la syphilis précoce et tardive du lapin. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 294-343 I. E.

1.833

REMLINGER (J.) et **BAILLY (J.).**—1942. Les virus rabiques naturellement atténuées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 314-322. I. E.

1.834

LWOFF (André) et **MOREL (Madeleine).**—1942. Conditions et mécanisme de l'action bactéricide de la vitamine C. Role de l'eau oxygénée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 323-342. I. E.

1.835

STEFANOPOULO (G. J.), DUVOLON (S.) et **ETEVE (J.).**—1942. Sur le virus de poliomyélite (souche Lansing) adapté a la souris. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 343-350. I. E.

1.836

DOUCHEZ (Y.).—1942. Sur les galles des racines de pomme de terre provoquées par le Spongospora subterranea (Wall.) T. Johnson. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 351-353. I. E.

1.837

POCHON (Jacques).—1942. Fermentation de la cellulose par un anaérobie thermophile. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 353-354. I. E.

1.838

GRABAR (Pierre) et **STAUB (Anne-Marie).**—1942. Fractionnement du sérum anticharbonneux de cheval. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 355-360. I. E.

1.839

NITTI (F.) et **TABONE (J.).**—1942. Etudes sour le pouvoir antisulfamide. I. Le comportement de l'acide p-aminobenzoique et des peptones vis-a-vis de quelques espéces microbieñnes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 360-363. I. E.

1.840

PREVOT (A. R.) et TAFFANEL (J.).—1942. Recherches biochimiques sur Cl. histolyticum et l'influence de la vitamine C sur son métabolisme. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 363-365. I. E.

1.841

LOISEAU (G.).—1942. Ed. Tendron (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 367-368. I. E.

1.842

L. M.—1942. A.-T. Salimbeni (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 369-372. I. E.

1.843

LOISELEUR (J.).—1942. Emploi pratique de l'électrode de verre pour la mesure de pH. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 373-380. I. E.

1.844

GIROUD (Paul) et PANTHIER (René).—1942. Adaptation au poumon de lapin des rickettsies du typhus historique. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 381-390. I. E.

1.845

LEBLOND (C. P.) et CHAULIN-SERVINIERE (J.).—1942. Béribéri spontané du singe. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 391-408. I. E.

1.846

MILLET (M.).—1942. Modifications des caractères de fermentation du colibacille en présence d'entérocoque. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 409-415. I. E.

1.847

TABONE (J.) et NITTI (F.).—1942. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. II. Quelques aspects chimiques du pouvoir antisulfamidé des peptones (acétylation et dialyse). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 416-419. I. E.

1.848

PREVOT (A. R.) et TAFFANEL (J.).—1942. Recherches biochimiques sur F. fusiformis. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 420-421. I. E.

1.849

DERVICHIAN (D.).—1942. Sur les dimensions des micro-organismes considérées a l'échelle meléculaire. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 422-425. I. E.

1.850

BRETEY (J.).—1942. Récolte directe sur lamelle, sans transfert, de la totalité d'un culot de centrifugation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 426-428. I. E.

1.851

REMLINGER (P.) et BAILLY (J.).—1942. Action de l'essence d'eucalyptus sur quelques ultravirus neurotropes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 428-430. I. E.

1.852

PEREZ (J. J.), GRABAR (P.) et LOISELEUR (J.).—1942. Propriétés immunologiques des protéides aprés solubilisation dans milieux non aqueux. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 430-432. I. E.

1.853

LEPINE (P.), LEVADITI (Jean C.) et GIUNTINI (J.).—1942. Détermination par ultracentrifugations comparatives de la densité du virus vaccinal. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 432-435. I. E.

1.854
MONOD (Jacques).—1942. Influence de l'amide de l'acide nicotinique de l'aneurine et de l'acide ascorbique sur la croissance des cultures de B. Coli. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 435-438. I. E.

1.855
LOISELEUR (J.).—1942. Sur la valeur antigéne des proféines formolées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 439-443. I. E.

1.856
MONOD (Jacques).—1942. Sur un phénoméne de lyse lié a l'inanition carbonée. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 444-451. I. E.

1.857
BRETEY (J.).—1942. Les modifications anatomo-pathologiques provoquées par le BCG au niveau des scarifications cutanées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 452-456 I. E.

1.858
BERTRAND (Gabriel).—1942. Recherches sur la teneur en bore des graines. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 457-460. I. E.

1.859
TCHAKIRIAN (Arakel).—1942. Action physiologique et thérapeutique des composés du germanium sur les animaux et les plantes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 461-465. I. E.

1.860
LEPINE (P.) et JEANTET (P.).—1942. Sur la structure des paracristaux de la Mosaique du Tabac examinés a l'ultramicroscope. **Annales de L Institut Pasteur.** 68: 466-467. I. E.

1.861
POCHON (J.).—1942. Fermentation de la cellulose par Terminosporus thermocellulolyticus. (Pochon, 1942). Rendement en glucose et en alcool. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 467-468. I. E.

1.862
LWOFF (André et Marguerite). —1942. Sur la spécificité du facteur V. Absence d'activité de l'allixazine-adénine-dinucléotide pour hemophilus parainfluenzœ. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 469-470. I. E.

1.863
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.).—1942. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. III. Quelques aspects chimiques du pouvoir antisulfamide des peptones: hydrolyse. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 470-471. I. E.

1.864
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.).—1942. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. Quelques aspects chimiques du pouvoir antisulfamide des peptones: Diazotation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 471-474. I. E.

1.865
NITTI (F.), TABONE (J.) et MOUSSET (H.).—1942. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. Activité exaltante des peptones sur le pouvoir antisulfamide de l'acide para-aminobenzoique dosage des antisulfamides. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 474-476. I. E.

1.866
GIRARD (G.).—1942. Sur quelques nouveaux caractéres diférenciant les bacilles de la peste et de la pseudotuberculose des Pasteurella. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 476-478. I. E.

1.867
LOISELEUR (J.) et PRUDHOMME (R. O.).—1942. Caracterisation de certaines toxines et anatoxines par leur fluorescence en lumiére de Wood. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 479-480. I. E.

1.868
GUELIN (A.).—1942. Bacteriophages du groupe coli-dysentérique a grandes plages isolés des eaux du bassin de la seine. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 481-482. I. E.

1.869
ROUYER (M.), GUELIN (A.) et GRABAR (P.).—1942. Dimensions trouvées par ultrafiltration de quelques bactèriophages récemment isolés. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 482-485. I. E.

1.870
ROUYER (M.) et GUELIN (A.).—1942. Sensibilité relative a la lumiére de divers bacteriophages. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 485-488. I. E.

1.871
MACHEBOEUF (Michel) et MONNIER (A. M.).—1942. Dispositif optique trés simple permettant de repérer le déplacement des protéides au cours de leur séparation par électrophorése. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 488-491 I. E.

1.872
BONET-MAURY (P.).—1942. Méthodes statistiques de titrage des ultravirus. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 491-494. I. E.

1.873
MACHEBOEUF (Michel) et VISCONTINI (Max).—1942. Recherches sur la stabilité des liaisons entre agglutinines et bactéries cas du bacillus Typhimurium et des agglutinines spécifiques du sérum de lapin immunisé. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 495-496. I. E.

1.874
TABONE (J.), NITTI (F.) et MOUSSET (H.).—1942. Etudes sur le pouvoir antisulfamide. VI. Influence de la diazotation sur le pouvoir antisulfamide des autolysats de levure. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 496-497. I. E.

1.875
NITTI (F.), BOYER (F.) et CONGE (M.).—1942. Action du p-amino-phénylsulfamide dans le Sodoku expérimental du cobaye. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 497-498. I. E.

1.876
LWOFF (André).—1942. Michel Volkonsky (†). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 499-502. I. E.

1.877
LEPINE (F.), NICOLLE (P.) et GIUNTINI (J.).—1942. Sur la détermination de la taille des bacteriophages par l'ultracentrifugation. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 503-512. I. E.

1.878
GUILLAUMIE (Maylis), KREGUER (A.) et FABRE (M.).—1942. Titrage des sérums anti-perfringens. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 513-517. I. E.

1.879
CHORINE (V.) et CROUGUE (O.).—1942. Virulence du sang du cobaye infecté avec le Spirochaeta hispanica. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 518-523. I. E.

1.880
CHORINE (V.).—1942. Culture du spirochéte de la poule. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 524-527. I. E.

1.881
AUDUREAU (Alice).—1942. Mutations additives de Moraxella Lwoffi. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 528-537. I. E.

1.882
MOREL (Madeleine) et BARATTE (Jacques).—1942. Teneur du lait de la vache en vitamine P. P. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 538-539. I. E.

1.883
THOMAS (G.) et NELIS (P.).—1942. La genése de l'activite bactéricide des huiles siccatives. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 540-544. I. E.

1.884
CRUVEILHIER (L.) et VIALA (Ch.).—1942. Les vaccinations antirabiques a l'Institut Pasteur en 1941. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 545-547. I. E.

1.885
MONOD (Jacques).—1942. Diauxie et respiration au cours de la croissance des cultures de B. coli. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 548-550. I. E.

1.886
MANOUELIAN (Y.).—1942. Demonstration expérimentale de la virulence rabique des filets du plexus solaire et des endoneurocytes. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 550-552. I. E.

1.887
MANOUELIAN (Y.).—1942. Du danger de contamination par des lésions syphilitiques dites fermées. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 552-555. I. E.

1.888
MACHEBOEUF (Michel) et VISCONTINI (Max).—1942. Recherches sur la stabilité des liaisons entre agglutinines et bactéries cas du bacillus para-typhi a et des agglutinines spécifiques du sérum de cheval immunise. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 555-556. I. E.

1.889
NITTI (F.) et JOUIN (J. P.).—1942. Granulie expérimentale de la souris provoquée par du bacille tuberculeux humain. Essai de traitement par le p-aminophénylsulfamide (1162F). **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 556-557. I. E.

1.890
PREVOT (A. R.) et TAFFANEL (J.).—1942. Acétylméthylcarbinol et fermentations anaérobies. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 559-560 I. E.

1.891
LATARJET (Raymond).—1942. La loi de réciprocité dans l'irradiation d'un bactériophage avec les rayons X. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 561-563. I. E.

1.892
SOHIER (R.), JAULMES (Cr.) et TISSIER (M.).—1942. Recherches sur le mécanisme de la réaction d'agglutination dite de Paul et Bunnell. Reproduction expérimentale chez le lapin des anticorps de la mononucléose infectieuse. **Annales de L'Institut Pasteur.** 68: 563-566. I. E.

Fotocopias en Microfilm (Unidad = fotograma formato Leica, 24 × 36 mm.).
a) En rollo de cinta continua.
b) En filmofichas.

La modalidad «filmoficha», por la gran facilidad de ordenación, archivación, localización rápida de las cintas y manejo de lectura, supera con mucho a la modalidad en rollo. Se llama «filmoficha» una tira de película de cinco fotogramas y medio (en otros sistemas seis), en que caben diez páginas de libro ordinario (libro abierto, o sea, dos páginas cada foto). El medio fotograma que se añade (uno entero en otros sistemas) se destina a «referencia», es decir, título y signatura en la filmoteca y en el centro de origen. Las filmofichas, para ofrecer tales ventajas, van alojadas en unas carpetas «Filmoteca», especialmente dispuestas para contener diez de ellas (cien páginas o cincuenta folios) en lóculos perfectamente adaptados con sus referencias numéricas y espacio preciso para títulos, páginas y toda clase de indicaciones útiles.

Fotocopias en papel.

En positivo; a diversos tamaños; se sirve juntamente el negativo en película, sin aumento de precio, si se pide.

Precios:

En microfilm: 50 céntimos por fotograma. Mínimo pagable: 2'50 pesetas (una filmoficha).

Carpeta «Filmoteca»: 2 ptas. Para cien páginas.

En papel: tamaño 9 × 12 cms., 2 ptas.; 13 × 18 cms., 2,50 ptas.; 18 × 24 cms., 3 ó 4 ptas., según el papel. Tamaños mayores, precios a convenir en cada caso.

OTRAS REVISTAS DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

ANALES DE EDAFOLOGIA Y FISIOLOGIA VEGETAL.—Publicación del Instituto de Edafología y Fisiología Vegetal.

Continuadores de los «Anales del Instituto Español de Edafología, Ecología y Fisiología Vegetal». Abiertos a una amplia colaboración, recogen en sus páginas trabajos sobre suelos y fisiología vegetal, tanto del Instituto de origen como de otros Centros investigadores españoles y extranjeros y, asimismo, estudios de tipo informativo y bibliográfico.

Bimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 100 pesetas.

ANALES DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DE AULA DEI.—Publicación de la Estación Experimental de Aula Dei (Zaragoza).

Estos «Anales», de reciente aparición, presentan anualmente el conjunto de los trabajos y estudios, publicados o no con anterioridad, que sobre temas propios de Biología Vegetal sean llevados a cabo por los miembros de este Centro.

Precio del tomo anual, 30 pesetas.

ANALES DEL JARDIN BOTANICO DE MADRID.—Publicación del Instituto «Antonio J. de Cavanilles».

Publica trabajos y notas científicas que abarcan todos los campos de la Botánica.

Precio del tomo anual, 100 pesetas.

COLLECTANEA BOTANICA.—Publicación del Instituto Botánico de Barcelona.

Dedicada a la Botánica en general, viene a ser un órgano exterior de la actividad del Instituto Botánico de Barcelona, elemento de enlace con los demás centros de investigación.

Publica trabajos sobre las distintas disciplinas de la Botánica: Sistemática, Florística, Fitosociología, Fisiología, Micología, Briología, Algología, etcétera.

Dedica una parte a reseñas bibliográficas y a la información.

Semestral. Ejemplar, 15 pesetas. Suscripción, 25 pesetas.

FARMACOGNOSIA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Esta revista está dedicada al estudio de los problemas de Farmacognosia, tal como se concibe en el momento presente, siendo sus finalidades: una, propiamente científica, que trata de Botánica, análisis químico, experimentación fisiológica y clínica, y otra, de orden práctico, relativa al cultivo y recolección de materias primas idóneas, no sólo para la Medicina, sino para la Dietética y la industria.

Cuatrimestral. Ejemplar, 23 pesetas. Suscripción, 60 pesetas.

GENETICA IBERICA.—Publicación del Instituto «José Celestino Mutis».

Publica trabajos sobre Citología, Citogenética y Genética de los diversos materiales que constituyen el tema específico de investigación en los distintos Centros colaboradores de la revista, en España y Portugal, y los relacionados con la mejora de las especies vegetales que interesan en la Farmacognosia.

Trimestral. Ejemplar, 20 pesetas. Suscripción, 70 pesetas.

PRECIO: 44 PESETAS